

**UJI PERLEKATAN ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL)
ASAL SALURAN PENCERNAAN DOC BROILER**



Skripsi

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih Gelar
Sarjana Peternakan (S.Pt) Jurusan Ilmu Peternakan
Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar

Oleh :

SYAFRUDDIN
60700112044

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN MAKASSAR
2016**

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan penuh kesadaran, penyusun yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya penyusun sendiri. Jika di kemudian hari terbukti bahwa ia merupakan duplikat, tiruan, plagiat atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Makassar, Agustus
2016

Penyusun,

SYAFRUDDIN
NIM: 60700112044

PERSETUJUAN PEMBIMBING

Pembimbing skripsi saudara **SYAFRUDDIN**, NIM: 60700112044 mahasiswa Jurusan Ilmu Peternakan pada Fakultas Sains dan Teknologi, setelah dengan seksama meneliti dan mengoreksi skripsi yang bersangkutan dengan judul, **“UJI PERLEKATAN MIKROBA ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) ASAL SALURAN PENCERNAAN DOC BROILER”**, memandang bahwa skripsi tersebut telah memenuhi syarat-syarat ilmiah dan dapat disetujui untuk diajukan ke Ujian Munaqasyah.

Demikian persetujuan ini diberikan untuk diproses lebih lanjut.

Makassar, Agustus 2016

Pembimbing I

Khaerani Kiramanang, S.Pt, MP.
NIP. 1973828 200604 2 001

Pembimbing II

Muh. Nurhidayat, S.Pt, MP.
NIP. 19750909 200912 1 001

Mengetahui

Ketua Jurusan Ilmu Peternakan

Dr. Ir. Muh. Basir Paly, M.Si.
NIP. 19590712 1986 031 002

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul **“Uji Perlekatan Mikroba Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) Asal Saluran Pencernaan DOC Broiler”** yang disusun oleh **SYAFRUDDIN**, NIM: 60700112044, mahasiswa Jurusan Ilmu Peternakan pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, telah di uji dan dipertahankan dalam sidang *munaqasyah* yang diselenggarakan pada hari Rabu, tanggal 27 Juli 2016, dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana dalam Peternakan Jurusan Ilmu Peternakan.

Gowa, Agustus 2016
21 Syawal 1437 H

DEWAN PENGUJI:

Ketua	: Dr. Wasilah, ST., MT.	(.....)
Sekretaris	: Rusny S.Pt., M.Si.	(.....)
Munaqisy I	:Dr. Muh Taufik, S.Pt., M.Si.	(.....)
Munaqisy II	:Hafsan, S.Si.,M.Pd.	(.....)
Munaqisy III	:Dr. Thahir Maloko, M.Thi	(.....)
Pembimbing I	: Khaerani Kiramang, S.Pt., MP	(.....)
Pembimbing II	:Muh. Nurhidayat, S.Pt.,MP	(.....)

Diketahui oleh:
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar

Prof. Dr.H. Arifuddin Ahmad, M.Ag.
NIP. 19691205 199303 1 001

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT. Yang telah melimpahkan taufik dan hidayah Nya sehingga penulis dapat merampungkan penyusunan skripsi yang berjudul **“Uji Perlekatan Mikroba Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) Asal Saluran Pencernaan DOC Broiler”** yang diajukan sebagai salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Ilmu Peternakan (S.Pt) pada Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

Shalawat dan salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan Rasulullah Muhammad SAW, beserta sahabat-sahabatnya dan kepada pengikut setianya Insya Allah. Penulis menyadari bahwa karya ini tidak akan terselesaikan tanpa bantuan dari berbagai pihak yang telah memberi dukungan, doa, semangat, pelajaran dan pengalaman berharga pada penulis sejak penulis menginjak bangku perkuliahan hingga proses penyusunan skripsi ini.

Selama penyusunan skripsi, tentunya tidak lepas dari berbagai hambatan dan tantangan, namun berkat petunjuk, bimbingan, arahan, do'a serta dukungan moril dari berbagai pihak maka hambatan dan tantangan tersebut dapat teratasi. Untuk itu, perkenankanlah penulis menghanturkan ucapan terima kasih dan penghargaan yang istimewa kepada Ayahanda **Madia** dan Ibunda tercinta **Nawia**, serta **keluargaku** yang tanpa pamrih, penuh kasih sayang membesarkan dan mendidik penulis sejak kecil hingga menyelesaikan pendidikan seperti saat ini.

Terselesaikannya skripsi ini juga tidak lepas dari bantuan dan dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, melalui kesempatan ini penulis dengan

segala kerendahan hati dan rasa hormat untuk mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. **Bapak Prof. Dr. Musafir Pabbabari, M.Si** selaku rektor Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
2. **Bapak Prof. Dr.H. Arifuddin, M.Ag.** selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
3. **BapakDr.Ir.M. Basir Paly,M.Si** sebagai ketua Jurusan Ilmu Peternakan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
4. **Ibunda Khaerani Kiramang, S.Pt., MP** selaku Dosen Pembimbing pertama, dan **Bapak Muh. Nurhidayat, S.Pt., MP** selaku Dosen Pembimbing kedua, atas bimbingan dan panutannya selama ini dan banyak meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan penulis mulai dari penyusunan proposal sampai penyelesaian skripsi ini.
5. **Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Ilmu Peternakan** atas bimbingan dalam kegiatan perkuliahan, baik dalam tatap muka maupun arahan-arahan diluar perkuliahan.
6. **Bapak Dr. Muh. Taufik, S.Pt., M.Si, Ibunda Hafsan, S.Pd., M.Si,** dan **Bapak Dr. Thahir Maloko, M.Thi** selaku penguji yang memberikan saran dan kritikan yang konstruktif demi kesempurnaan penulisan dan penyusunan skripsi ini.
7. Sekolah Tinggi Penyuluhan Pertanian (STPP) Gowa yang telah memberikan kami wadah untuk melakukan penelitian, dan terima kasih kepada bapak

Pimpinan, kepala Laboratorium, Staf Laboratorium dan terkhusus kepada Kak Ali, S.St dan Kak Andi, S.Pt.

8. Rekan-rekan seperjuangan di Jurusan Ilmu Peternakan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar Angkatan 2012: **Asrul, Asdar, Ardiansyah, Mansur, Edy Sudrajat, Fadillah, Rivaid, Salju, Tamink, Akkung, Salhud, Astri, Rika, Nanda, Sari Alang.**
9. Sahabatku tercinta: **Akbar, S.Pt, Marnila, L, S.Pt, Irma Rukamana Kadir, S.Pt, Nurfahmi Sukiman, S.Pt.**
10. Sodaraku tercinta: **Kasmawati, Agus, Wahyuni, Murnianti, Gusti, Irwan,** serta keluarga yang tidak pernah berhenti mengiringi do'a, motivasi, serta canda tawa sehingga dalam kondisi apapun penulis tetap mampu percaya diri dalam penyelesaian skripsi ini.

Semoga segala bantuan dan bimbingan semua pihak dalam penyusunan skripsi ini mendapat imbalan dari Allah SWT. Aamiin

Wassalamu Alaikum Wr. Wb

Makassar, Agustus 2016
Penulis

SYAFRUDDIN

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING	iii
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI.....	iv
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR	ix
PEDOMAN TRANSLITERASI ARAB-LATIN DAN SINGKATAN.....	x
ABSTRAK	xviii
ABSTRACT.....	xix
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Kegunaan Penelitian.....	3
E. Penelitian Terdahulu	4
F. Defenisi Operasional dan Ruang Lingkup Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tinjauan Umum Al-Qur'an Tentang mikrobiologi.....	8
B. Bakteri Asam Laktat (BAL).....	16
C. Probiotik.....	26
D. Uji Perlekatan Mikroba	30
BAB III METODE PENELITIAN	

A. Jenis dan Lokasi Penelitian	35
B. Pendektan Penelitian	35
C. Populasi dan Sampel	35
D. Variabel Penelitian	36
E. Metode Pengumpulan Data	36
F. Alat dan Bahan	37
G. Prosedur Kerja	38
H. Teknik Pengolahan dan Analisis Data	47

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian	48
1. Persiapan BAL dari Usus DOC Broiler	48
2. Autoagregasi BAL dari Usus DOC Broiler	49
3. Koagregasi BAL dari Usus DOC Broiler	51
4. Uji Penempelan <i>Pediococcus</i> sp. pada Usus Mencit secara In vitro ..	53
B. Pembahasan	55
1. Persiapan BAL dari Usus DOC Broiler	55
2. Autoagregasi BAL dari Usus DOC Broiler	56
3. Koagregasi BAL dari Usus DOC Broiler	57
4. Uji Penempelan <i>Pediococcus</i> sp. pada Usus Mencit secara In vitro ..	59

BAB V PENUTUP

A. Kesimpulan	62
B. Saran	62

DAFTAR PUSTAKA	63
----------------------	----

LAMPIRAN-LAMPIRAN

RIWAYAT HIDUP

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema Bakteri Asam Laktat.....	38
Gambar 2. Skema Autoagregasi BAL.....	43
Gambar 3. Skema Penempelan Usus Mencit Secara In Vitro.....	46
Gambar 4. Persiapan BAL dari Usus DOC Broiler	48
Gambar 5. Autoagregasi BAL dari Usus DOC Broiler.....	49
Gambar 6. Koagregasi BAL dari Usus DOC Broiler.....	51
Gambar 7. Uji Penempelan <i>Pediococcus</i> sp. pada Usus Mencit secara In vitro..	53

PEDOMAN TRANSLITERASI ARAB-LATIN DAN SINGKATAN

A. *Transliterasi Arab-Latin*

Daftar huruf bahasa Arab dan transliterasinya kedalam huruf latin dapat dilihat pada tabel berikut:

1. *Konsonan*

Huruf Arab	Nama	Huruf Latin	Nama
ا	Alif	tidak dilambangkan	tidak dilambangkan
ب	Ba	B	be
ت	Ta	T	te
ث	Sa	S	es (dengan titik di atas)
ج	Jim	J	Je
ح	Ha	H	ha (dengan titik di bawah)
خ	Kha	kh	Ka dan ha
د	Dal	D	De
ذ	Zal	X	zet (dengan titik di atas)
ر	Ra	R	Er
ز	Zai	Z	Zet
س	Sin	S	Es
ش	Syin	sy	es dan ye
ص	Sad	S	es (dengan titik di bawah)
ض	Dad	D	de (dengan titik di bawah)
ط	Ta	T	te (dengan titik di bawah)
ظ	Za	Z	zet (dengan titik di bawah)
ع	‘ain	‘	Apostrof terbalik
غ	Gain	G	Ge
ف	Fa	F	Ef
ق	Qaf	Q	Qi
ك	Kaf	K	Ka
ل	Lam	L	El
م	Mim	M	Em
ن	Nun	N	En
و	Wau	W	We

هـ	Ha	H	Ha
ء	Hamzah	‘	Apostrof
ي	Ya	Y	Ye

Hamzah (ء) yang terletak di awal kata mengikuti vokalnya tanpa diberi tanda apapun. Jika ia terletak di tengah atau di akhir, maka ditulis dengan tanda (‘).

2. Vokal

Vokal bahasa Arab, seperti vokal Bahasa Indonesia, terdiri atas vokal tunggal atau menoftong dan vokal rangkap atau diftong.

Vokal tunggal Bahasa Arab yang lambangnya berupa tanda atau harakat, transliterasinya sebagai berikut :

Tanda	Nama	Huruf Latin	Nama
اَ	<i>Fathah</i>	A	A
اِ	<i>Kasrah</i>	I	I
اُ	<i>Dammah</i>	U	U

Vokal rangkap bahasa Arab yang lambangnya berupa gabungan antara harakat dan huruf, transliterasinya berupa gabungan huruf, yaitu :

Tanda	Nama	Huruf Latin	Nama
اِيْ	<i>fathah dan yaa'</i>	Ai	a dani
اُوْ	<i>fathah dan wau</i>	Au	a dan u

Contoh:

كَيْفَ : *kaifa*

هَوْل : *hau*la

3. *Maddah*

Maddah atau vocal panjang yang lambangnya berupa harakat dan huruf, transliterasinya berupa huruf dan tanda, yaitu :

Harakat dan Huruf	Nama	Huruf dan Tanda	Nama
ا... ا... اِ	Fathah dan alif atau yaa'	A	A dan garis di atas
اِ	Kasrah dan yaa'	I	I dan garis di atas
اُ	Dhammah dan waw	U	U dan garis di atas

Contoh:

مات : *maata*

رَمَى : *ramaa*

قِيلَ : *qiila*

يَمُوتُ : *yamuutu*

4. *Taa' marbuutah*

Transliterasi untuk *taa' marbuutah* ada dua, yaitu *taa' marbuutah* yang hidup atau mendapat *harakat fathah*, *kasrah*, dan *dhammah*, transliterasinya adalah (t).sedangkan *taa' marbuutah* yang mati atau mendapat harakat sukun, transliterasinya adalah (h).

Kalau pada kata yang berakhir dengan *taa' marbuutah* diikuti oleh kata yang menggunakan kata sedang al- serta bacaan kedua kata tersebut terpisah, maka *taa' marbuutah* itu ditransliterasikan dengan ha (h).

Contoh :

الْأَطْفَالِ الرَّوَضَةُ : *raudah al- atfal*

الْقَاضِيَةُ الْمَدِينَةُ : *al- madinah al- fadilah*

الْحِكْمَةُ : *al-hikmah*

5. Syaddah (Tasydid)

Syaddah atau *tasydid* yang dalam sistem tulisan Arab dilambangkan dengan sebuah tanda tasydid(ّ), dalam transliterasi ini dilambangkan dengan perulangan huruf (konsonan anda) yang diberi tandasyaddah.

Contoh :

رَبَّنَا : *rabbanaa*

نَجِّنَا : *najjainaa*

الْحَقُّ : *al- haqq*

نُعَمُّ : *nu''ima*

عَدُوٌّ : *'aduwwun*

Jika huruf ى ber-*tasydid* di akhir sebuah kata dan didahului oleh huruf kasrah (يَ) maka ia ditransliterasikan sebagai huruf *maddah* menjadi i.

Contoh :

عَلِيٌّ : 'Ali (bukan 'Aliyyatau 'Aly)

عَرَبِيٌّ : 'Arabi (bukan 'Arabiyyatau 'Araby)

6. Kata Sandang

Kata sandang dalam sistem tulisan Arab dilambangkan dengan huruf ال (*alif lam ma'arifah*). Dalam pedoman transliterasi ini, kata sandang ditransliterasikan seperti biasa, al-, baik ketika ia diikuti oleh huruf *syamsiyah* maupun huruf *qamariyah*. Kata sandang tidak mengikuti bunyi huruf langsung

yang mengikutinya. kata sandang ditulis terpisah dari kata yang mengikutinya dan dihubungkan dengan garis mendatar (-).

Contoh :

الشَّمْسُ : *al-syamsu* (bukan *asy-syamsu*)

الزَّلْزَلَةُ : *al-zalzalah* (*az-zalzalah*)

الْفَلَسَفَةُ : *al-falsafah*

الْبِلَادُ : *al-bilaadu*

7. Hamzah

Aturan transliterasi huruf hamzah menjadi apostrof (') hanya berlaku bagi hamzah yang terletak di tengah dan akhir kata. Namun, bila hamzah terletak di awal kata, ia tidak dilambangkan, karena dalam tulisan Arab ia berupa alif.

Contoh :

تَأْمُرُونَ : *ta'muruuna*

النَّوْعُ : *al-nau'*

شَيْءٌ : *syai'un*

أُمِرْتُ : *umirtu*

8. Penulisan Kata Bahasa Arab Yang Lazim Digunakan Dalam Bahasa Indonesia.

Kata, istilah atau kalimat Arab yang ditransliterasi adalah kata, istilah atau kalimat yang belum dibakukan dalam Bahasa Indonesia. Kata, istilah atau kalimat yang sudah lazim dan telah menjadi bagian dari perbendaharaan bahasa Indonesia, atau sering ditulis dalam tulisan Bahasa Indonesia, atau lazim digunakan dalam dunia akademik tertentu, tidak lagi ditulis menurut cara transliterasi di atas. Misalnya, kata Al-Qur'an (dari *Al-Qur'an*), al-hamdulillah, dan munaqasyah.

Namun, bila kata-kata tersebut menjadi bagian dari satu rangkaian teks Arab, maka harus ditransliterasi secara utuh. Contoh :

Fizilaal Al-Qur'an

Al-Sunnah qabl al-tadwin

9. *Lafz al- Jalaalah* (الله)

Kata “Allah” yang didahului partikel seperti huruf *jar* dan huruf lainnya atau berkedudukan sebagai *mudaafilaih* (frasa nominal), ditransliterasi tanpa huruf hamzah.

Contoh :

بِاللهِ *diinullah* بِاللهِ *billaah*

Adapun taamarbuutah di akhir kata yang disandarkan kepada *lafz al-jalaalah*, ditransliterasi dengan huruf [t].contoh :

hum fi rahmatillaah

10. *Huruf Kapital*

Walau sistem tulisan Arab tidak mengenal huruf capital (*All Caps*), dalam transliterasinya huruf-huruf tersebut dikenai ketentuan tentang penggunaan huruf capital berdasarkan pedoman ajaran Bahasa Indonesia yang berlaku (EYD). Huruf kapital, misalnya, digunakan untuk menuliskan huruf awal nama diri (orang, tempat, bulan) dan huruf pertama pada permulaan kalimat. Bila nama diri didahului oleh kata sandang (al-), maka yang ditulis dengan huruf kapital tetap huruf awal nama diri tersebut, bukan huruf awal kata sandangnya. Jika terletak pada awal kalimat, maka huruf A dari kata sandang tersebut menggunakan huruf capital (Al-). Ketentuan yang sama juga berlaku untuk huruf awal dari judul

refrensi yang didahului oleh kata sandang al-, baik ketika ia ditulis dalam teks maupun dalam catatan rujukan (CK, DP, CDK, dan DR). contoh:

Wa ma muhammadun illaa rasul

Inna awwala baitin wudi' alinnasi lallazii bi bakkata mubarakan

Syahrul ramadan al-lazii unzila fih al-Qur'an

Nazir al-Din al-Tusi

Abu Nasr al- Farabi

Al-Gazali

Al-Munqiz min al-Dalal

Jika nama resmi seseorang menggunakan kata ibnu (anak dari) dan Abu (bapak dari) sebagai nama kedua terakhirnya, maka kedua nama terakhir itu harus disebutkan sebagai nama akhir dalam daftar pustaka atau daftar referensi. Contoh:

Abu Al-Wafid Mummad Ibn Rusyd, ditulis menjadi: Ibnu Rusyd, Abu Al-Walid Muhammad (bukan : rusyd, abu al-walid Muhammad ibnu)

Nasr Hamid Abu Zaid, ditulis menjadi: Abu Zaid, Nasr Hamid (bukan: Zaid, Nasr Hamid Abu)

B. *Daftar Singkatan*

Beberapa singkatan yang dilakukan adalah :

swt	= <i>subhanallahu wata'ala</i>
saw	= <i>sallallahu 'alaihi wasallam</i>
a.s	= <i>'alaihi al-sallam</i>
H	= Hijriah
M	= Masehi
SM	= Sebelum Masehi
I	= Lahir Tahun (untuk orang yang masih hidup saja)
W	= Wafat Tahun
QS.../...4	= QS. Al-Baqarah/2:4 atau QS. Al-Imran/3:4
HR	= Hadis Riwayat

Untuk karya ilmiah berbahasa Arab, terdapat beberapa singkatan berikut :

ص	=صفحة
دم	= بدون مكان
صلعم	= صلى الله عليه و سلم
ط	= طبعة
دن	= بدون ناشر
الخ	= الى اخرها / الى اخره
ج	= جزء

ABSTRAK

Nama : Syafruddin

Nim : 60700112044

Jurusan : Ilmu Peternakan

Judul : Uji Perlekatan Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) Asal Saluran Pencernaan Doc Broiler

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri yang tergolong dalam Gram positif, yang memiliki bentuk bulat atau batang. Bakteri asam laktat dapat diperoleh dengan cara mengisolasi dari usus pencernaan *Day Old Chick* (DOC) broiler. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat BAL asal saluran pencernaan DOC broiler, untuk mendapatkan tingkat daya agregasi, mengetahui perlekatan isolat BAL asal kandidat saluran pencernaan DOC. Metode penelitian mengamati daya agregasi (autoagregasi maupun koagregasi) sampel bakteri *Pediococcus* sp. dari usus DOC yaitu mengamati terbentuknya agregat pada dasar tabung dan suspensi media uji terlihat keruh akibat autoagregasi antara *Pediococcus* sp. dengan *Pediococcus* sp. Lainnya, koagregasi antara *Pediococcus* sp. dengan *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*, di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Daya autoagregasi dan koagregasi dibuktikan lebih lanjut dengan mengamati penempelan *Pediococcus* sp. pada permukaan epitel usus mencit (*Mus musculus*) setelah dikutivasi pada MRSA pada suhu 37°C selama 24 jam.

Hasil penelitian dari agregasi bersifat autoagregasi yang ditandai dengan adanya endapan di dasar tabung, bersifat koagregasi karena *Pediococcus* sp. mampu menghambat pertumbuhan dari bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*. *Pediococcus* sp. Dapat melekat pada saluran pencernaan baik yang dicuci maupun yang tidak dicuci dengan *Phosphat Buffer Saline* (PBS) pH 5. Sebagai kesimpulan bahwa terjadinya autoagregasi dan koagregasi serta *Pediococcus* sp. dapat menempel pada saluran pencernaan mencit.

Kata kunci : BAL, usus mencit, Pediococcus sp., Staphylococcus aureus, Salmonella thypi, Autoagregasi dan Koagregasi, penempelan.

ABSTRACT

NAME : Syafruddin
Reg. Num : 60700112044
Prodi : Ilmu Peternakan
Tittle : Test of Lactic Acid Bacteria (BAL) Isolates Adhesions
from
Digestion Duct of Doc Broiler

Lactic Acid Bacteria (BAL) was the bacteria that were classified in positive Gram, which was had circle or stick form. Lactic acid bacteria could be got by Isolating intestinal digestion *Day Old Chick* (DOC) boiler. His research was purposed to get the Isolates of BAL from Duct of Doc Broiler Digestion, to get the Aggregation power level, to know the Adhesions of BAL isolates source the duct candidate of the DOC Digestion. The research method was observing the aggregation power (autoaggregation nor koaggregations) the sample of *Pediococcus* sp. Form DOC intestinal DOC, was observed its aggregate formed in base of the tube and suspension of test media it was seem turbid caused autoaggregation between *Pediococcus* sp. with *Staphylococcus aureus* and *Salmonella thypi*, they were incubation as long as 24 hours in the temperature was 37⁰C.. Autoaggregation power and koaggregation were more proved by observed the attachment of *Pediococcus* sp. at the surface of mencil epitel intestine (*Mus Musculus*) after cultivated to MRSA in the temperature was 37⁰C as long as 24 hours.

The result of the aggregation was characteristically autoaggregation which was marked with there was sediment in the base of the tube, characteristically koaggregation because *Pediococcus* sp. could hampered the growth of the *Staphylococcus aureus* and *Salmonella thypi* bacteria. *Pediococcus* sp. could be clung to the digestion duct both washed and unwashed with *Phosphat Buffer Saline* (PBS) pH 5. In conclusion, that the occurrence autoaggregation and koaggregation and *Pediococcus* sp. could be clung to the mouse's digestion duct.

Key word: BAL, mouse's digestion, Pediococcus sp., Staphylococcus aureus, Salmonella thypi, Autoaggregation and Koaggregation, attachment.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang sangat kaya dengan berbagai macam ragam tumbuh-tumbuhan maupun binatang ternak, salah satunya adalah jenis ayam broiler yang pertumbuhannya sangat cepat sehingga berbagai macam percobaan dilakukan untuk tetap membuat ayam tersebut dapat tumbuh dengan baik, pada era moderem ini berbagai macam penelitian dilakukan oleh para ahli seperti halnya membuktikan bahwa dalam DOC ayam broiler dapat dijadikan sebagai kandidat probiotik bakteri asam laktat.

Bakteri asam laktat (BAL) adalah bakteri yang tergolong Gram positif, bentuk batang atau bulat, katalase negatif dan oksidase atau positif. Bakteri asam laktat tidak membentuk spora, pada umumnya tidak motil tetapi ada beberapa yang motil. BAL merupakan kelompok bakteri Gram-positif yang mampu mengubah karbohidrat menjadi asam laktat, BAL dapat hidup di saluran pencernaan ternak. Keberadaan bakteri probiotik tersebut masih sangat kurang khususnya di usus halus, sehingga penyerapan sari makanan menjadi kurang maksimal. Jadi untuk menambahkan jumlah bakteri probiotik seperti BAL pada usus biasanya bakteri probiotik tersebut diisolasi dari usus ternak itu sendiri agar didapatkan bakteri probiotik yang benar-benar cocok dan sesuai dengan sistem pencernaan ternak tersebut namun tidak semua jenis bakteri usus merupakan bakteri probiotik BAL.

Probiotik merupakan suatu organisme yang dapat memberikan kontribusi terhadap keseimbangan mikroba dalam usus, probiotik akan efektif bila mampu bertahan dengan baik dalam beberapa kondisi lingkungan dan tetap hidup dalam beberapa bentuk kemasan. Karakteristik probiotik yang efektif adalah dapat dikemas dalam bentuk hidup dalam skala industri, stabil dan hidup pada kurun waktu penyimpanan lama dan bisa bertahan hidup di dalam usus dan menguntungkan bagi ternak.

Manfaat probiotik bagi inangnya dapat melalui mekanisme fungsi yaitu fungsi protektif, yaitu kemampuannya untuk menghambat patogen dalam saluran pencernaan. Terbentuknya kolonisasi probiotik dalam saluran pencernaan, mengakibatkan kompetisi nutrisi dan lokasi adhesi (penempelan) antara probiotik dan bakteri lain, khususnya patogen. Pertumbuhan probiotik juga akan menghasilkan berbagai komponen anti bakteri (asam organik, hidrogen peroksida, dan bakteriosin yang mampu menekan pertumbuhan patogen). Probiotik memberikan efek fisiologis seperti antikolesterol, antihipertensi, intoleran laktosa, anti karsinogenik, gangguan saluran pencernaan serta alergi.

Salah satu kriteria lain dari bakteri probiotik yang menarik untuk diteliti adalah kemampuan penempelannya pada permukaan mukosa usus. Kemampuan bakteri asam laktat untuk menempel pada permukaan mukosa sangat penting bukan hanya untuk menjaga keseimbangan jumlah bakteri dalam saluran pencernaan, tetapi juga untuk mencegah perkembangan bakteri patogen.

Berdasarkan hal tersebut diatas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui bagaimana bakteri asam laktat (BAL) dari usus halus DOC broiler

itu dapat diambil kemudian dimanfaatkan sebagai probiotik untuk itu maka perlu dilakukan penelitian bagaimana perlekatan mikroba isolat tersebut pada saluran pencernaan unggas.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana mendapatkan daya agregasi pada isolat BAL
2. Apakah isolat BAL asal saluran pencernaan DOC broiler sebagai kandidat probiotik dapat melekat pada saluran pencernaan tikus putih.

C. Tujuan Penelitian

Tujuan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui daya agregasi pada isolat BAL
2. Mengetahui perlekatan isolat BAL asal saluran pencernaan DOC broiler.

D. Kegunaan Penelitian

Kegunaan pada penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Sebagai data ilmiah kepada masyarakat veteriner dan industry peternakan mengenai bakteri asam laktat yang terdapat pada saluran pencernaan DOC broiler.
2. Sebagai rujukan untuk penelitian lanjutan dan peneliti lainnya tentang mikroba isolat pada saluran pencernaan DOC broiler.

E. Kajian Pustaka (Peneliti Terdahulu)

Kaswi (2015), **Daya Agregasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Indigenous Limbah Dangke**. Hasil yang diperoleh yakni umumnya bakteri asam laktat (BAL) dikenal sebagai bakteri probiotik karena kemampuannya membentuk kolonisasi pada saluran pencernaan dengan sifat agregasi dan

koagregasi yang dimilikinya. Karena itu pula sehingga BAL mampu menempel pada sel epitel usus sehingga dapat menjaga keseimbangan mikroflora pada saluran pencernaan dan mencegah pertumbuhan bakteri pathogen.

Kos dkk (2003), **Kemampuan Adhesi dan Agregasi Probiotik Strain *Lactobacillus acilodophilus* M92 (Adhesion and Aggregation Ability of Probitic Strain *Lactobacillus acilodophilus* M92).** Hasil yang diperoleh yakni terdapat hubungan antara autoagregasi dan kemampuan penempelan *Lactobacillus acilodophilus* M92, dimediasi oleh komponen protein yang terdapat pada permukaan sel bakteri sehingga *Lactobacillus acilodophilus* M92 memiliki kemampuan untuk menjaga saluran pencernaan manusia yang merupakan factor penentu sebagai strain probiotik.

Castagliuolo dkk (2005), **Efektifitas Autoagregasi *Lactobacillus Crispatus* Terhadap Eksperimen Induksi Kolitis pada Tikus (*Beneficial Effect of Autoaggregating Lactobacillus Crispatus on Experimentally Induced Colitis in Mice*.** Hasil yang diperoleh yakni terdapat hubungan antara autoagregasi dan kemampuan penempelan *Lactobacillus acilodophilus* M92, dimediasi oleh komponen protein yang terdapat pada permukaan sel bakteri sehingga *Lactobacillus acilodophilus* M92 memiliki kemampuan untuk menjaga saluran pencernaan manusia yang merupakan faktor penentu sebagai strain probiotik.

Sumarni (2012), **Karakteristik Penempelan dan Koagregasi Bakteri Asam Laktat (BAL) *Indigenous* Dadiah dan Yoghurt Sebagai Kandidat Probiotik pada Usus Halus Tikus Secara *In Vitro*.** Hasil yang diperoleh yakni BAL *indigenous* dadiah dan yoghurt dan BAL asal yoghurt susu sapi dapat

menempel pada permukaan mukosa usus halus tikus secara *in vitro* serta mampu berkoagregasi antara sesame BAL sehingga dapat meningkatkan fungsi probiotik untuk mencegah dominasi bakteri pathogen pada usus halus.

F. Defenisi Operasional dan Ruang Lingkup Penelitian

1. Defenisi operasional

- a. Uji perlekatan adalah kemampuan suatu bakteri melekat pada dinding sel usus mencit
- b. Daya agregasi adalah kemampuan *Pediococcus* sp. membentuk koloni (dalam bentuk autoagregasi, yaitu interaksi *Pediococcus* sp. Dengan *Pediococcus* sp. lainnya maupun koagregasi) pada media cair yang diindikasikan positif jika adanya endapan di dasar tabung kultur dan negatif jika tidak terlihat adanya endapan di dasar tabung kultur pada suspensi media yang lebih keruh setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C.
- c. Daya autoagregasi adalah kemampuan *Pediococcus* sp. berinteraksi dengan *Pediococcus* sp. lainnya pada media cair yang diindikasikan positif jika terlihat adanya endapan di dasar tabung kultur dan negatif jika tidak terlihat adanya endapan di dasar tabung kultur pada suspensi media yang terlihat keruh setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C.
- d. Daya koagregasi adalah kemampuan *Pediococcus* sp. berinteraksi dengan bakteri patogen (*Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*) membentuk koloni pada media cair yang diindikasikan taraf A jika pembentukan endapan tidak terlihat dalam suspensi sel, taraf B jika pembentukan endapan terlihat sangat kecil dalam suspensi keruh, taraf C jika pembentukan endapan kecil

mudah terlihat dalam suspensi keruh, taraf D jika pembentukan endapan terlihat jelas dan menetap, meninggalkan supernatan yang jelas, dan taraf E jika endapan membentuk gumpalan sangat besar koagregatnya yang menetap hampir seketika meninggalkan supernatan yang jelas, setelah diinkubasi selama 24 jam selama 37⁰C.

- e. Mekanisme penempelan bakteri pada permukaan epitel usus disebut juga adhesi. Adhesi adalah melekatnya *Pediococcus* sp. yang diisolasi dari usus DOC broiler pada permukaan epitel usus mencit yang ditandai dengan terlihatnya koloni bakteri menempel pada jaringan epitel dan mukus gel yang melapisi permukaan jaringan epitel usus atau tersangkut pada mikrovili sampel usus halus mencit.
- f. Bakteri probiotik adalah bakteri yang mendukung kestabilan populasi mikroflora pada usus dan memerangi aktivitas bakteri patogen pada usus melalui proses adhesi (penempelan).

2. Ruang lingkup penelitian

Penelitian ini mencakup tentang tingkat daya agregasi dimana meliputi autoagregasi dan koagregasi, serta melihat daya lekat bakteri *Pediococcus* sp. Pada saluran pencernaan mencit.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum AL-Quran tentang Ternak Unggas dan tentang Mikroorganisme

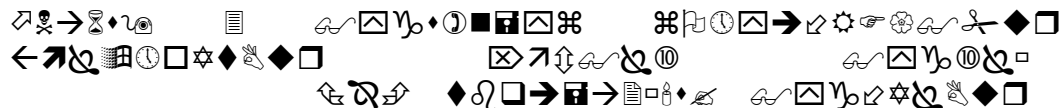
Ternak unggas merupakan spesies burung yang dapat memberikan keuntungan ekonomis bagi manusia yang memeliharanya, beberapa jenis unggas yang memberikan keuntungan antara lain ayam, itik, angsa dan puyuh. Usaha beternak unggas perlu memperhatikan pakan, *Breeding*, manajemen dan lingkungan. Keempat hal tersebut diperlukan dalam peningkatan produksi dan mempercepat daya kerja setiap sistem yang ada di dalam tubuh ternak sehingga menghasilkan produk yang optimum, antara lain sistem pencernaan, sistem *Respirasi*, sistem reproduksi, dan sistem *Urinari* (Sari, 2012).

Ayam broiler merupakan suatu ternak unggas hasil dari budidaya yang bersifat ekonomis dengan pertumbuhan yang cukup cepat dalam menghasilkan daging yang siap potong dengan lama budidaya yang relatif singkat, baik jenis jantan atau pun betina (Kanisius, 1986).

Ayam broiler merupakan unggas penghasil daging sebagai sumber protein hewani untuk pemenuhan kebutuhan pangan masyarakat. Permintaan terhadap daging ayam semakin bertambah seiring dengan peningkatan penghasilan dan kesadaran masyarakat akan pentingnya asupan protein hewani. Ayam broiler memiliki siklus produksi lebih singkat dibandingkan dengan unggas lain, karena mempunyai sifat genetik yang semakin baik khususnya untuk sifat

pertumbuhan. Keberhasilan peternakan ayam broiler dipengaruhi oleh mutu genetik, lingkungan, dan interaksi antara genetik dengan lingkungan.

Didalam QS An-Nahl/16:5 dibawah ini membahas tentang penciptaan binatang ternak.



Terjemahnya:

“Dan dia Telah menciptakan binatang ternak untuk kamu, padanya ada (bulu) yang menghangatkan dan berbagai-bagai manfaat, dan sebahagiannya kamu makan”. (Kementerian Agama, RI., 2012:268).

Allah swt. telah menciptakan berbagai macam hewan ternak yang kemudian akan diperuntukkan pada manusia, dengan diciptakannya hewan ternak maka manusia bisa mengambil segala potensi yang ada pada seekor ternak tersebut, keberanekaragaman hewan ternak yang ada dipermukaan bumi ini adalah salah satu karunia Allah untuk keseimbangan, keserasian, keharmonisan dan ketertiban. Alam kehidupan bagi orang yang berpikir. Banyak sekali yang bisa kita jadikan pelajaran dari penciptaan seekor ternak. Ternak mampu memenuhi kebutuhan hidup manusia terutama pada kebutuhan pangan berasal dari produk hewani yang pokok yaitu daging, susu, dan kulit. Jika kita perhatikan maka yang tersirat dalam surah Al-Nahl/16:5 tersebut dapat dilihat pentingnya hewan ternak bagi manusia, karena dari keberagaman hewan ternak dapat memberikan berbagai macam keuntungan lain terhadap manusia seperti meningkatkan derajat dan meningkat perekonomian bagi pelaku pengusaha peternakan khususnya dalam usaha ternak unggas.

Hal ini sesuai dengan Firman Allah swt. dalam QS al-An'am/6:142 yang

berbunyi:



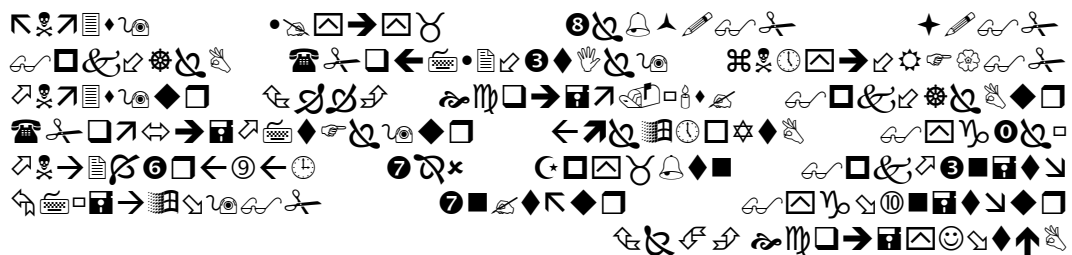
Terjemahnya:

Dan di antara hewan ternak itu ada yang dijadikan untuk pengangkutan dan ada yang untuk disembelih. Makanlah dari rezki yang telah diberikan Allah kepadamu, dan janganlah kamu mengikuti langkah-langkah syaitan. Sesungguhnya syaitan itu musuh yang nyata bagimu. (Kementerian Agama, RI., 2012:147).

Maksud dari ayat diatas bahwa Allah swt. menciptakan berbagai ciptaan beraneka ragam ternak yang yang bisa dijadikan pangan untuk kelangsungan hidup manusia yang memiliki nilai gizi protein yang menunjang asupan serap pangan yang memiliki nutrisi bagi tubuh seperti dengan mengkonsumsi daging seperti daging ayam broiler.

Hal ini sesuai dengan Firman Allah swt. dalam QS al-Mu'min/40:79,80

yang berbunyi:



Terjemahnya:

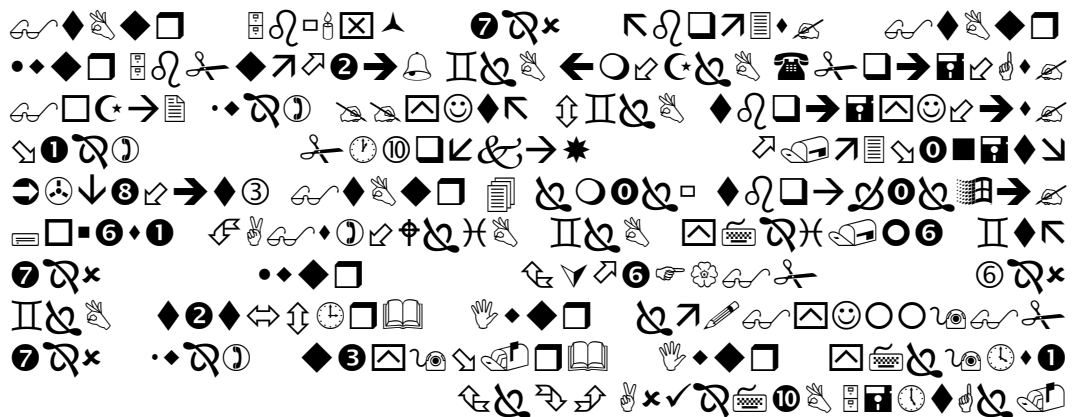
Allah swt. yang menjadikan binatang ternak untuk kamu, sebagiannya untuk kamu kendarai dan sebagiannya untuk kamu makan. Dan (ada lagi) manfaat-manfaat yang lain pada binatang ternak itu

Maksud dari ayat diatas menjelaskan bahwa mikroorganisme atau mikroba merupakan suatu pengetahuan yang hukumnya sunnah bahkan bersifat fardu kifayah bagi umat Islam untuk mengetahuinya.

[illegible]

Sesungguhnya Allah hanya mengharamkan bagimu bangkai, darah, daging babi, dan binatang yang (ketika disembelih) disebut (nama) selain Allah. Tetapi barang siapa dalam keadaan terpaksa (memakannya) sedang dia tidak menginginkannya dan tidak (pula) melampaui batas, maka tidak ada dosa baginya. Sesungguhnya Allah Maha Pengampun lagi Maha Penyayang. (Kementerian Agama, RI., 2012:27).

Hal ini sesuai dengan Firman Allah swt. dalam QS Yunus/10:61 yang berbunyi:



Terjemahnya:

Kamu tidak berada dalam suatu keadaan dan tidak membaca suatu ayat dari Al-Quran dan kamu tidak mengerjakan suatu pekerjaan, melainkan kami menjadi saksi atasmu di waktu kamu melakukannya tidak luput dari pengetahuan. Tuhanmu biarpun sebesar zarrah (atom) di bumi ataupun di langit, tidak ada yang lebih kecil dan tidak (pula) yang lebih besar dari itu, melainkan (semua tercatat) dalam Kitab yang nyata (Lauh mahfuzh). (Kementerian Agama, RI., 2012:216).

Maksud dari ayat diatas adalah menjelaskan bahwa zarrah (atom) serupa dengan mikroorganisme/mikroba yang memiliki ukuran sangat kecil dan tidak dapat dilihat dengan mata telanjang , dan hanya dapat dilihat dengan menggunakan alat tertentu seperti mikroskop.

Hal ini sesuai dengan Firman Allah swt. dalam QS Yasin/36:36 yang berbunyi:



Terjemahnya:

Maha Suci Tuhan yang telah menciptakan pasangan-pasangan semuanya, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka maupun dari apa yang tidak mereka ketahui. (Kementerian Agama, RI., 2012:443).

Maksud dari ayat diatas adalah bahwa mikroorganisme/mikroba termasuk golongan virus yang diketahui oleh manusia pada abad ke 20.

Adapun hadis tentang sepertiga untuk makan, seperti untuk minum, dan sepertiga untuk nafas adalah sebagai berikut:

عن المقدم بن معدي كرب أَنَّ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ: مَا مَلَأَ آدَمِيٌّ وَعَاءَ شَرًّا مِنْ بَطْنِهِ، بِحَسْبِ ابْنِ آدَمَ لُقَيْمَةٌ يُقْمَنَ صَلْبُهُ فَإِنْ كَانَ لَأَمْحَالَةً فَأَعْلًا فَتُلْتُ لِبَطْنِهِ وَتُلْتُ لِشَرِّهِ بِهِ (وَتُلْتُ لِنَفْسِهِ) (رواه الترمذی وابن حبان)

Artinya:

Dari miqdam bin ma'dikariba sesungguhnya Allah swt. bersabda: "Tidaklah seorang anak Adam mengisi sesuatu yang lebih buruk dari perutnya sendiri, cukuplah bagi anak adam beberapa suap yang dapat menegakkan tulang punggungnya, jikapun ingin berbuat lebih, maka sepertiga untuk makanan dan sepertiga untuk minum dan sepertiga lagi untuk nafasnya. (HR. Tirmidzi dan Ibnu Hibban).

Adapun maksud dari hadis yang diriwayatkan dari Miqdam, bahwasanya Nabi memerintahkan kita untuk makan yang cukup dan tidak memenuhi seluruh perut kita dengan makanan. Tetapi dibagi menjadi tiga bagian, sepertiga untuk makanan, sepertiga untuk air, dan sepertiga untuk udara.

Sebagai ilustrasi, jika sebuah blender yang diisi penuh sampai ke atas dan kemudian mesinnya di hidupkan, maka blender itu bisa pecah atau rusak. Perut manusia bukan blender, tetapi sebagai penghalus, berfungsi juga sebagai pemecah, pencampur, dan pengolah makanan, segalanya menjadi satu.

Pembatasan makanan tidak berarti anjuran untuk menahan lapar terus menerus yang membuat orang lapar gizi. Al-hadis mengajarkan untuk makan

setelah lapar, dan berhenti sebelum kenyang. namun yang dimaksud lapar di sini bukanlah lapar dalam pengertian lapar gizi.

Dengan demikian, islam telah mengajarkan pola makan yang seimbang. Pola makan yang berlebihan merupakan sesuatu yang dilarang oleh Allah. Telah terbukti dalam literatur kesehatan bahwa makanan yang berlebihan merupakan dasar dari berbagai penyakit. Kelebihan makanan dapat membuat obesitas yang menambah resiko berbagai penyakit seperti diabetes, hipertensi, jantung, dan lain-lain. Untuk menjaga agar terbiasa tidak makan berlebihan, islam juga mengatur puasa wajib di bulan ramadan dan puasa sunat di hari lainnya.

Adapun hadis tentang makan sebelum lapar dan berhenti sebelum kenyang adalah sebagai berikut:

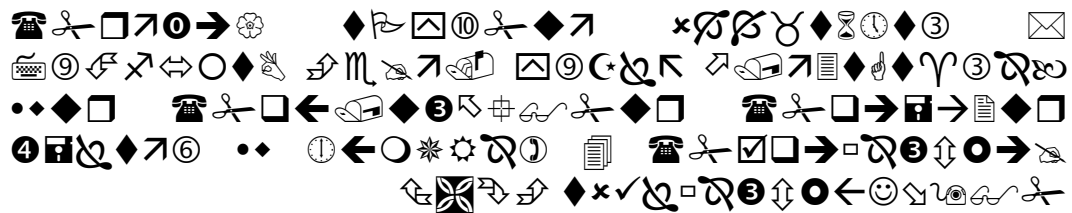
نَحْنُ قَوْمٌ لَا نَأْكُلُ حَتَّى نَجُوعَ وَإِذَا أَكَلْنَا لَا نَشْبَعُ

Artinya:

Kami adalah kaum yang tidak makan sampai kami lapar dan jika kami makan maka kami tidak sampai kenyang.

Maksud dari hadis diatas menjelaskan bahwa betapa pentingnya dilakukan manajemen pemberian pakan dan pemberian minum kepada ternak khususnya untuk ternak unggas agar pertumbuhannya dapat terjadi secara sistematis dan tidak berlebih-lebihan untuk mendapatkan kualitas daging yang baik.

Hal ini sesuai dengan Firman Allah swt. dalam QS al-A'raf/7:31 yang berbunyi:



Terjemahnya:

Hai anak Adam, pakailah pakaianmu yang indah di setiap (memasuki) mesjid, makan dan minumlah, dan janganlah berlebih-lebihan sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan. (Kementerian Agama, RI., 2012:155).

Maksud dari ayat diatas yakni bagaimana Allah swt. mengajarkan dan memerintahkan umat islam untuk memakai pakain serta makan dan minum sesuai dengan kebutuhan tubuh kita.

Antibakteri merupakan obat pembasmi bakteri khususnya bakteri yang merugikan manusia. Hal ini sesuai dengan hadist yang diriwayatkan oleh Bukhari Muslim, Rasulullah bersabda:

“Jika kamu mendengar tentang kata *Tha'un* di suatu tempat maka janganlah memasukinya (tempat itu). Apabila kamu (terlanjur) berada di tempat terkena wabah itu, maka janganlah kamu keluar darinya (tempat itu) (HR. At-Tirmizi dari Sa'id).”

Hadis diatas menjelaskan tentang penyakit *Tha'un* (sampar, bisul, kolera, campak atau penyakit menular lainnya). Rasulullah melarang suatu kaum yang mengidap penyakit *Tha'un* untuk keluar dari daerahnya ataupun tidak boleh memasuki suatu tempat yang terjangkit wabah *Tha'un*. Penyakit *Tha'un* adalah penyakit menular yang disebabkan oleh bakteri udara maupun tanah yang mengakibatkan kekebalan tubuh seseorang.

B. Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri asam laktat merupakan senyawa metabolit utama pada fermentasi oleh bakteri asam laktat yang akan menurunkan pH pada sekitar saluran usus menjadi 4–5, sehingga menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan *Eschercheia coli* yang membutuhkan pH optimum 6-7. Sejumlah asam volatil yang dihasilkan selama fermentasi juga memberikan efek antimikroba dalam kondisi redoks potensial yang rendah. Asam asetat dan asam propionat yang dihasilkan melalui fermentasi heterofermentatif, akan berinteraksi dengan sel membran dan mengakibatkan asidifikasi intraseluler dan denaturasi protein, sehingga sangat efektif sebagai antimikroba (Surono, 2004).

Semula bakteri asam iaktat diklasifikasikan menjadi empat kelas yaitu genus *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, dan *Pediococcus*. Klasifikasi tersebut lebih didasarkan pada ciri morfologi, tipe fermentasi, kemampuan untuk tumbuh pada suhu yang berbeda, sifat stereospesifik (D atau L laktik), serta toleransi terhadap asam dan basa. Klasifikasi bakteri asam laktat berkembang sehingga genus *Lactobacillus* menjadi *Lactobacillus* dan *Carnobacterium*. Sedangkan genus *Streptococcus* menjadi empat yaitu *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Vagococcus*, dan *Enterococcus*. Genus *Pediococcus* menjadi *Pedicoccus*, *Tetragenococcus* dan *Aerococcus*. Untuk genus *Leuconostoc* tetap. Klasifikasi yang baru tersebut dihasilkan dengan rnempertimbangkan komposisi asarn lernak pada membran sel, motilitas dan urutan RNA, serta persen guanin dan sitosin pada DNA (Pot, 1994).

Konsep bakteri asam laktat adalah nama grup yang diciptakan untuk bakteri yang menyebabkan fermentasi dan koagulasi susu, serta dapat

menghasilkan asam laktat dari laktosa. Nama family *Lactobacteriaceae* diterapkan oleh Orla-Jensen, (1919) kepada sekelompok bakteri yang menghasilkan asam laktat sendiri atau asam asetat dan asam laktat, alkohol dan karbon dioksida. Bakteri asam laktat adalah kelompok bakteri Gram-positif yang disatukan mengikut karakteristik morfologi, metabolisme, dan fisiologis. Mereka adalah non-spore, fermentasi karbohidrat-produksi asam laktat, tahan asam dalam keadaan non-aerobik dan katalase negatif. Biasanya mereka adalah non-motile dan tidak mereduksi nitrit. Mereka dibagi menjadi empat genus *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, dan *Lactobacillus*. Revisi taksonomi terbaru menunjukkan bahwa bakteri asam laktat kelompok bisa terdiri dari genera *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, dan *Vagococcus*. Awalnya, bifido termasuk dalam genus *Lactobacillus* dan organisme ini disebut sebagai *Lactobacillus bifidus*. Klasifikasi bakteri asam laktat ke dalam genus berbeda sebagian besar didasarkan pada morfologi, cara fermentasi glukosa, pertumbuhan pada temperatur yang berbeda, dan konfigurasi dari asam laktat yang dihasilkan, kemampuan untuk tumbuh pada konsentrasi garam tinggi, toleransi pada asam atau basa (Lee dan Salminen, 2009).

Bakteri asam laktat termasuk golongan bakteri mikroaerofilik, yang memfermentasi heksosa menghasilkan asam laktat. Bakteri asam laktat yang banyak digunakan dalam dunia industri adalah spesies *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, dan *Lactobacillus* (Makarova, 2006, O'Sullivan et al, 2009).

Bakteri asam laktat juga dapat menghasilkan peptida antimikroba seperti bakteriosin, sebagai contoh adalah *L. salivarius* UCC118, yang sangat efektif untuk menekan pertumbuhan *L. monocytogenes*. Beberapa spesies yang biasa ditemukan pada saluran pencernaan manusia dan hewan, kadang-kadang juga dapat menimbulkan penyakit. Penyakit yang disebabkan oleh kolonisasi BAL patogen seperti; infeksi saluran kencing, bakterimia, *Endokarditis*, *Divertikulitis*, dan *Meningitis* (O'Sullivan et al, 2009).

Bakteri Asam Laktat (BAL) adalah kelompok bakteri yang mampu mengubah karbohidrat (glukosa) menjadi asam laktat. Efek bakterisidal dari asam laktat berkaitan dengan penurunan pH lingkungan menjadi 3 sampai 4,5 sehingga pertumbuhan bakteri lain termasuk bakteri pembusuk akan terhambat. Efektivitas BAL dalam menghambat bakteri pembusuk dipengaruhi oleh kepadatan BAL, strain BAL, dan komposisi media. Selain itu, produksi substansi penghambat dari BAL dipengaruhi oleh media pertumbuhan, pH, dan temperature/suhu lingkungan (Amin, 2001).

Beberapa senyawa yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat bersifat antimikroba diantaranya adalah asam-asam organik, hidrogen peroksida, reuterin dan bakteriosin.

a. Asam- asam organik

Akumulasi produk akhir asam dan turunnya pH menyebabkan penghambatan yang luas terhadap bakteri baik Gram positif maupun negatif. Nilai pH rendah yang dicapai, konstanta disosiasi dan konsentrasi asam menentukan aktivitas penghambatan dari asam yang dihasilkan. Asam-asam lipofilik seperti

asam laktat dan asetat dalam bentuk tidak terdisosiasi dapat menembus sel mikroba dan pada pH intraseluler yang lebih tinggi, berdisosiasi menghasilkan ion-ion hidrogen dan mengganggu fungsi metabolik esensial seperti translokasi substrat dan fosforilasi oksidatif, dengan demikian mereduksi pH intraseluler (Baird dan Parker, 1980).

b. Hidrogen Peroksida

Bakteria asam laktat menghasilkan hidrogen peroksida dengan adanya oksigen. Pembentukan hidrogen peroksida dikatalisis oleh flavoprotein sitoplasmik (FAD) NADH oksidase yang sangat aktif dengan tujuan untuk menghilangkan kelebihan elektron dari NADH sehingga berkompetisi dengan laktat dehidrogen untuk NADH (terbentuk selama pemecahan glukosa) tetapi tanpa reduksi ATP (Condon, 1987).

Efek antimikroba dari hidrogen peroksida adalah terjadinya keracunan hiperbarik akibat peroksidasi lemak membran sel yang menyebabkan meningkatnya permeabilitas membran sel. Efek bakterisidalnya menghasilkan metabolit oksigen ini tidak disertai efek mengoksidasi yang kuat terhadap sel-sel tetapi juga destruksi struktur monokuler dasar dari asam nukleat dan protein sel (Dahl, 1989).

c. Reuterin

Reuterin dihasilkan oleh *Lactobacillus reuterii* yang terdapat dalam alat pencernaan manusia dan hewan. Berat molekul reuterin adalah kurang dari 200 Da dan tahan terhadap aktivitas protease dengan demikian tidak disebut bakteriosin. Reuterin merupakan campuran dengan komposisi berimbang dari

monomer hidrat dan imer siklik dari b-hidroksipropionaldehida yang terbentuk Selama metabolisme anaerob gliserol dan griselal-dehida (Talarico, 1988 Talarico dan Dobrogosz¹, 1989).

Reuterin adalah senyawa antimikroba yang mempunyai spektrum yang luas yang efektif terhadap bakteri Gram negatif, khamir, kapang dan protozoa. Senyawa ini menghambat enzim-enzim sulfhidril seperti ribonukleotida reduktases, suatu enzim yang terlibat dalam biosintesa DNA (Talarico dan Dobrogosz, 1989).

d. Bakteriosin

Bakteriosin didefinisikan sebagai protein dengan efek antagonistik intraspesifika atau yang memiliki aktivitas sebagai bakterisidal dengan spektrum aktivitas yang lebih rendah bila dibanding dengan antibiotik (Daeschel, 1985). Bakteriosin adalah senyawa protein, oleh karenanya disintesis melalui mekanisme biosintesis protein ribosom umum yang melibatkan fanskripsi dan fanlasi. Bakteriosin disandi baik oleh DNA kromosom maupun plasmid (De Vuyst dan Vandamme¹, 1994).

Bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dapat berupa protein atau kompleks protein (agregat protein, protein lipokarbohidrat, glikoprotein dan lain-lain) yang aktif secara hayati berefek bakterisidal khususnya terhadap bakteri Gram positif dan yang berkerabat dekat dengan spesies bakteri penghasilnya. Bakteriosin merupakan suatu kelompok yang heterogen dengan berat molekul, sifat-sifat fisik, kimia, sensitivitas, spektrum aktivitas antimikroba serta cara kerja yang bervariasi (De Vuyst dan Vandamme, 1994).

Bakteri asam laktat bersifat Gram positif, tidak membentuk spora, dapat berbentuk bulat atau batang, dengan komposisi basa DNA kurang dari 50% mol G +C. Umumnya bersifat katalase negatif tetapi kadang-kadang terdeteksi katalase semu pada kultur yang ditumbuhkan pada konsentrasi gula rendah. Untuk tumbuh membutuhkan karbohidrat yang dapat difermentasi (Pot, 1994).

Mikroba yang terdapat di dalam saluran pencernaan sangat kompleks dan merupakan komunitas yang dinamis. Total mikroba yang terdapat di saluran pencernaan diperkirakan mencapai 10^{12} sel setiap Gram isi dengan total sekitar 10^{15} yang terdiri dari lebih 1000 spesies, atau diperkirakan sekitar 3000-4000 spesies. Berat mikroorganisme ini mencapai 1,5 kg di dalam tubuh dan menyumbang 60% berat feses (Rahayu, 2008).

Beberapa BAL diklaim sebagai bakteri probiotik antara lain *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei*, dan *Bifidobacterium* karena merupakan mikroflora alami saluran pencernaan. Bakteri probiotik bermanfaat meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan mencegah pertumbuhan bakteri patogen (Parvez, 2006).

Spesies BAL dalam memetabolisme hexosa dapat melalui dua proses fermentasi, yaitu homofermentatif, dimana BAL hanya menghasilkan asam laktat, dan *Heterofermentatif*, dimana selain menghasilkan asam laktat BAL juga menghasilkan CO₂, asam asetat, dan etanol (Makarova, 2006).

Berkaitan tentang manfaat, sebagian bakteri asam laktat berpotensi memberikan dampak positif bagi kesehatan dan nutrisi manusia, beberapa diantaranya adalah meningkatkan nilai nutrisi makanan, mengontrol infeksi pada

usus, meningkatkan digesti (pencernaan) laktosa, mengendalikan beberapa tipe kanker, dan mengendalikan tingkat serum kolesterol dalam darah. Sebagian keuntungan tersebut merupakan hasil dari pertumbuhan dan aksi bakteri selama pengolahan makanan, sedangkan sebagian lainnya hasil dari pertumbuhan beberapa BAL di dalam saluran usus saat mencerna makanan yang mengandung BAL sendiri. Bakteri asam laktat dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain dengan memproduksi protein yang disebut bakteriosin. Salah satu contoh Bakteriosin yang dikenal luas adalah nisin, diproduksi oleh *Lactobacillus lactis*. Nisin dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri, yaitu *Bacillus*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, dan *Listeria*. Senyawa bakteriosin yang diproduksi BAL dapat bermanfaat karena menghambat bakteri patogen yang dapat merusak makanan ataupun membahayakan kesehatan manusia, sehingga keamanan makanan lebih terjamin (Pot, 1994).

1. Jenis bakteri yang digunakan pada penelitian ini yaitu:

a. *Pediococcus* sp.

Pediococcus sp. adalah genus [bakteri](#) yang termasuk [bakteri asam laktat](#) (BAL) dengan ciri non-motil (tidak bergerak) dan memiliki bentuk sferis. Sel bakteri ini terbagi ke dalam dua bidang sehingga membentuk pasangan, tetrad (terususun empat), atau gumpalan sel sferis yang lebih besar. Genus *Pediococcus* sp. termasuk golongan fakultatif anaerob dan untuk hidup memerlukan lingkungan yang kaya nutrisi serta mengandung faktor pertumbuhan dan gula yang dapat difermentasi. Bakteri ini termasuk homofermentatif (hanya menghasilkan [asam laktat](#)) dan tidak dapat menggunakan

pentosa (karbohidrat beratom C₅). Victoria Moreno-Arribas, Carmen Polo, María Carmen Polo (2008).

Suhu optimum untuk pertumbuhan *Pediococcus* sp. adalah 25-30 °C dan pH optimum \pm 6. Spesies dan galur dari genus ini berbeda dalam toleransi atau ketahanannya terhadap [oksigen](#), pH, suhu, resistensi antibiotik, dan NaCl. Beberapa galur dari *Pediococcus* telah diketahui memiliki satu atau lebih [plasmid](#) dalam berbagai ukuran, yang sebagian di antaranya mengkodekan [gen](#) untuk fermentasi [karbohidrat](#) dan produksi bakteriosin. Yiu H. Hui, George G. Khachatourians (1994).

Klasifikasi bakteri *Pediococcus* sp. adalah sebagai berikut:

Domain : [Bacteria](#)
Phylum : [Firmicutes](#)
Class : [Bacilli](#)
Order : [Lactobacillales](#)
Family : [Lactobacillaceae](#)
Genus : [Pediococcus](#)
Species : *Pediococcus* sp.

b. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus termasuk genus *Staphylococcus* dan family *Micrococcaceae*. Selnya berbentuk bulat, termasuk gram positif, katalase positif, tidak bergerak, fakultatif anaerob dan dapat tumbuh pada produk-produk yang mengandung NaCl sampai 16%. Kisaran suhu untuk pertumbuhan *S. aureus* adalah 6,5–46⁰C, dengan suhu optimumnya adalah 30–37⁰C. Nilai pH untuk

pertumbuhan bakteri ini adalah antara 4,2–9,3, dengan pH optimum 7,0–7,5 (Buckle *et al.*, 2007).

Pertumbuhan organisme ini dalam bahan pangan menghasilkan enterotoksin yang mengakibatkan keracunan makanan, yaitu apabila termakan dapat mengakibatkan serangan mendadak yaitu kejang perut, muntah-muntah yang hebat dan diare. Penyembuhan keracunan makanan yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* relatif cukup cepat dan pada umumnya hanya membutuhkan waktu satu hari (Buckle *et al.*, 2007).

Klasifikasi Nester (2004), *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Domain	: Bacteria
Kerajaan	: Eubacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

c. *Salmonella typhi*

Buckle *et al.* (2007), mengatakan bahwa *Salmonella typhi* merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk batang, tidak berspora, katalase positif dan bersifat fakultatif aerobik. *Salmonella typhimurium* tumbuh optimum pada suhu 37°C Nilai pH untuk pertumbuhan *Salmonella typhimurium* berkisar antara 4,0–9,0 dan nilai pH optimum 6,5–7,5,

bakteri ini akan mati perlahan-lahan pada pH dibawah 4 dan di atas 9.

14 Viabilitas *Salmonella typhimurium* akan menurun selama penyimpanan beku (Pelczar dan Chan, 2007).

Salmonella typhimurium menyebabkan demam tipus yang akan terjadi setelah 7-14 hari terinfeksi dan umumnya penderita penyakit merasakan sakit kepala, kehilangan nafsu makan, lemah dan demam yang terus menerus. Penyakit yang disebabkan oleh *Salmonella typhimurium* dapat mengakibatkan tingkat kematian sekitar 10%. Makanan yang pada umumnya dikontaminasi oleh *Salmonella typhimurium* adalah telur dan hasil olahannya, daging ayam, serta daging sapi, sehingga untuk mencegah perkembangbiakan *Salmonella typhimurium* bahan pangan tersebut tidak boleh terlalu lama disimpan di suhu kamar (Buckle *et al.*, 2007).

Klasifikasi *Salmonella typhi* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria

Filum : Proteobacteria

Ordo : Gamma Proteobacteria

Class : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : Salmonella

Spesies : *Salmonella typhi*

C. Probiotik

Probiotik berasal dari bahasa Yunani yang berarti "*Prolife*". Ini telah di redefinisi secara berulang selama bertahun-tahun lamanya sejajar dengan penambahan pengetahuan ilmiah yang semakin berkembang dan pemahaman yang lebih mendalam tentang hubungan antara kesehatan usus dan kesejahteraan umum. Berikut adalah definisi dari probiotik yang dicadangkan dan berubah seiring dengan peredaran masa. Menurut Lilly (1965), dalam Lee dan Salminen (2009), mendefinisikan probiotik sebagai faktor pencetus pertumbuhan yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Parker (1974), dalam Lee dan Salminen (2009), menyarankan adanya interaksi antara mikroorganisms dengan host. Organisme dan zat-zat dengan efek yang menguntungkan bagi manusia dengan mempengaruhi mikroflora usus.

Probiotik diartikan sebagai suplemen pakan yang berisi mikrobia hidup (*Directed microbials*). Mikroorganisme hidup ini bila dikonsumsi oleh inang akan memberikan pengaruh yang menguntungkan baginya dengan memperbaiki lingkungan mikrobiota yang ada dalam sistem pencernaan (Fuller, 1989).

Secara umum bakteri probiotik hidup didalam saluran pencernaan dan bermutualisme dengan tubuh inangnya hidup pada pH 2-4, tidak mengakibatkan hal yang negatif pada tubuh, tidak patogen, umumnya tidak membentuk spora, *Saccharolytic*, umumnya anaerob, tidak mengganggu ekosistem tubuh, hidup dan tumbuh didalam usus (Fuller, 1989).

Food and Agriculture Organization/World Health Organization (FAO/WHO) (2001), idealnya strain probiotik seharusnya tidak hanya mampu bertahan melewati saluran pencernaan tetapi juga memiliki kemampuan untuk

berkembang biak dalam saluran pencernaan, tahan terhadap cairan lambung dan cairan empedu dalam jalur makanan yang memungkinkan untuk bertahan hidup melintasi saluran pencernaan dan terkena paparan empedu. Selain itu probiotik juga harus mampu menempel pada sel epitel usus manusia, mampu membentuk kolonisasi pada saluran pencernaan, mampu menghasilkan zat anti mikroba (*Bakteriosin*), dan memberikan pengaruh yang menguntungkan kesehatan manusia. Syarat lainnya adalah tidak bersifat patogen dan aman jika dikonsumsi. Strain probiotik juga harus tahan dan tetap hidup selama proses pengolahan makanan dan penyimpanan, mudah diaplikasikan pada produk makanan, dan tahan terhadap proses psikokimia pada makanan (Prado, 2008).

Probiotik dapat memproduksi bakteriosin untuk melawan patogen yang bersifat selektif hanya terhadap beberapa strain patogen. Probiotik juga memproduksi *Asam laktat*, *Asam asetat*, *Hidrogen peroksida*, *Laktoperoksidase*, *Lipopolisakarida*, dan beberapa antimikrobia lainnya. Probiotik juga menghasilkan sejumlah nutrisi penting dalam sistem imun dan metabolisme host, seperti vitamin B (*Asam pantotenat*), *Pyridoksin*, *Niasin*, *Asam folat*, *Kobalamin*, dan *Biotin* serta *Antioksidan* penting seperti vitamin K (Adams, 2009).

Probiotik merupakan mikroorganisme yang menguntungkan. Beberapa manfaat dari mengonsumsi probiotik diantaranya: (1) baik untuk penderita *Lactose intolerance*, (2) pencegahan kanker usus besar, (3) menurunkan kolesterol, (4) menurunkan tekanan darah (Sanders, 2000). Prinsip kerja probiotik yaitu (1) mikroorganisme non-endogenous mendesak mikroorganisme patogen endogenous keluar dari ekosistem saluran pencernaan dan menggantikan lokasi

mikroorganisme patogen (translokasi) di dalam saluran pencernaan, (2) menyediakan enzim yang mampu 7 menyerap serat kasar, protein, lemak dan mendetoksifikasi zat racun dan metabolit, (3) menghasilkan asam, selain itu beberapa mikroba probiotik dapat menghasilkan bahan antimikroba (*Bakteriosin*). Probiotik dapat diberikan melalui pangan, air minum dan kapsul. Pemberian melalui pangan merupakan cara terbaik untuk memperoleh jumlah dan proporsi yang tepat (Gibson dan Roberford, 1995).

Bakteri probiotik yang bertahan hidup dalam saluran pencernaan setelah dikonsumsi, menunjukkan tahan terhadap lisozim, asam lambung dan asam empedu, sehingga mampu mencapai usus dalam keadaan hidup. Bakteri probiotik mampu melekat pada sel-sel epitelial dan memproduksi zat metabolit yang berperan dalam menjaga dan mempertahankan mikroflora usus. Kondisi seimbang mikroflora usus memberikan aktivitas menguntungkan dan menghasilkan efek positif bagi kesehatan (Yuguchi *et al.*, 1992).

Hoier (1992), menyatakan bahwa ada beberapa kriteria yang harus diperhatikan untuk penentuan strain mikroba probiotik, yaitu: (1) mampu melakukan aktivitas dalam memfermentasikan susu dalam waktu yang relatif cepat, (2) mampu menggandakan diri, (3) tahan terhadap suasana asam sehingga mampu hidup dan bertahan dalam saluran pencernaan, (4) menghasilkan produk akhir yang dapat diterima konsumen dan (5) mempunyai stabilitas yang tinggi selama proses fermentasi, penyimpanan dan distribusi. Pernyataan tersebut dikuatkan Lisal (2005), yang menegaskan bahwa karakteristik probiotik yang diinginkan dari satu strain spesifik mencakup: (a) mempunyai kapasitas untuk

bertahan hidup *Survived*, untuk melakukan kolonisasi *Colonized*, serta melakukan metabolisme *Metabolized* dalam saluran pencernaan, (b) mampu mempertahankan suatu keseimbangan mikroflora usus yang sehat melalui kompetisi dan inhibisi kuman-kuman patogen, (c) dapat menstimulasi bangkitnya pertahanan imun, (d) bersifat non-patogenik dan non-toksik, serta (e) harus mempunyai karakteristik teknologi yang baik, yaitu mampu bertahan hidup secara optimal dan stabil selama penyimpanan dan penggunaan (*Storage and Use*) dalam bentuk preparat makanan yang didinginkan atau dikeringkan, agar dapat disediakan dalam jumlah besar untuk industri.

D. Uji Perlekatan Mikroba

Uji perlekatan menggunakan metode Nagayama et al. (1995). Pada uji tersebut menggunakan enterosit yang diisolasi dari intestinum tikus putih (Wistar) dikerjakan menurut Weiser (1973).

1. Uji Perlekatan Bakteri pada enterosit

a.) Isolasi enterosit saluran intestinal tikus putih

Dipilih tikus putih sehat dengan berat sekitar 250 Gram. Tikus dibunuh dengan larutan eter. Usus halus diambil, dipotong dan dibuka. Potongan usus tersebut dicuci dengan larutan PBS pH 7,4 yang mengandung 1 mM dithiotreitol pada suhu 4 derajat C sampai bersih. Jaringan usus dimasukkan kedalam cairan yang mengandung: 1,5 mM KCL; 9,6 mM NaCl; 27 mM Na citrat; 8 mM KH₂PO₄ dan 5,6 mM NH₂HPO₄ dengan pH 7,3, campuran tersebut diinkubasi dengan goyangan pelan dalam inkubator 37 derajat C selama 15 menit.

Supernatandibuang, jaringan tersebut dicuci tiga kali dengan larutan penyangga PBS dengan sentrifugasi 12.000 rpm selama 5 menit endapan jaringan tersebut disuspensikan dengan larutan penyangga PBS yang mengandung BSA 1%. Sel dihitung dengan *Hemocytomer (Nebauer)* dengan pewarna biru tripan sehingga konsentrasi menjadi 10^6 I ml. Suspensi enterosit tersebut disimpan pada 4°C Nagayama at al. (1995).

b.) Kultivasi bakteri

Kultivasi bakteri *Salmonella typhi* isolat RS. Kariadi Semarang menggunakan BHI cair. Satu koloni bakteri dari media Mac Conkey diinkulisikan ke dalam 10 ml BHI cair kemudian diinkubasi pada suhu 37 derajat C selama 5 menit pada suhu 4 derajat C, kemudian palet dicuci sebanyak 2 kali. Setiap kali pencucian diresuspensikan dengan PBS pH 7,4 sebanyak 1,5 ml, selanjutnya desentrifugasi dengan PBS pH 7,4 yang mengandung 1% BSA sampai kepadatan sel bakteri 1×10^8 sel/ml.

c.) Uji perlekatan dengan enterosit tikus putih (Wistar)

Sebanyak 100 ul suspensi bakteri dicampur dengan 100 ul suspensi enterosit. Campuran tersebut diinkubasi pada shaking water bath dengan goyangan pelang (270 rpm/menit) selama 60 menit suhu 37 derajat C. Campuran suspensi tersebut disentrifus 12.000 rpm selama 2 menit. Pelat dicuci dengan larutan PBS yang mengandung BSA 1% sebanyak 50 ul dioleskan pada gelas obyek dan dicat dengan cat Gram dan kemudian dilihat di bawah mikroskop pola perlekatan sel bakteri pada enterosit.

2. Uji Hambatan Perlekatan

Uji hambatan perlekatan dilakukan dengan cara penyekatan bakteri *Salmonella typhi*, dengan antibodi anti protein hemaglutinin sub unit pilli kemudian ditambah enterosit, larutan penyangga PBS pH 5 yang mengandung 1% BSA. Pada suspensi tersebut ditambahkan pada masing-masing eppendrof sebanyak 100 u1 dioleskan pada gelas obyek dan dilakukan dengan pengecatan Gram.

Tikus merupakan spesies pertama mamalia yang didomestikasi untuk tujuan ilmiah karena memiliki daya adaptasi yang baik. Tikus yang diproduksi sebagai hewan percobaan dan hewan peliharaan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang memiliki beberapa keunggulan antara lain penanganan dan pemeliharaan yang mudah karena tubuhnya kecil, sehat dan bersih (Malole dan Pramono, 1989).

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) menurut Ballenger (2001), adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Sciurognathi
Famili	: Muridae
Subfamili	: Murinae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) memiliki ciri-ciri panjang total 440 mm, panjang ekor 205 mm dan berat 140-500 Gram, dengan rata-rata 400 Gram (Balenger, 2001). Karakteristik tikus putih (*Rattus norvegicus*) menurut Sigit *et al.* (2006), yaitu tekstur rambut kasar dan agak panjang, bentuk hidung kerucut terpotong, bentuk badan silindris agak membesar ke belakang, warna badan dorsal coklat hitam kelabu, warna badan ventral coklat kelabu pucat, berat 150-600 Gram dan panjang total 310-460 mm. Tikus putih dipakai karena tergolong omnivora, seperti halnya manusia dan telah terbukti bahwa kebutuhan asam amino esensialnya menyamai kebutuhan manusia, khususnya anak-anak. Satu minggu umur tikus putih ekuivalen dengan 30 minggu umur manusia, sehingga pengaruh zat gizi terhadap pertumbuhan dapat dipelajari dengan cepat pada tikus putih (Nio, 1989). Tikus laboratorium memiliki beberapa karakteristik yaitu: (a) tikus laboratorium jantan jarang berkelahi, (b) dapat tinggal sendirian dalam kandang asal dapat melihat dan mendengar tikus lain, (c) tikus ini tenang dan mudah ditangani di laboratorium, (d) dibandingkan tikus liar, tikus laboratorium lebih cepat menjadi dewasa, tidak memperlihatkan perkawinan musiman dan umumnya lebih mudah berkembang biak, mempunyai bobot badan dewasa mencapai 250 Gram tergantung galur. Ada dua sifat yang membedakan tikus dari hewan percobaan lain yaitu tikus tidak dapat muntah karena struktur anatominya yang tidak lazim yaitu di tempat esophagus bermuara ke dalam lambung dan tidak memiliki kandung empedu (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Beberapa karakteristik tikus antara lain bersifat *Nocturnal* yaitu aktif pada malam hari dan tidur pada siang hari. Aktivitas tikus dalam mencari makan memiliki

dua puncak, yaitu 9 sekitar 1-2 jam setelah matahari terbenam dan sekitar 1-2 jam sebelum terbit fajar. Aktivitas bias bergeser tergantung dari ketersediaan makanan (Sigit *et al.*, 2006). *al.*, 2006).

Uji koagregasi dilakukan sesuai dengan prosedur yang dikembangkan oleh Gusils *et al.* (1999). Kultur bacteria dipanen dengan sentrifugasi pada $10.0000 \times g$ selama 10 menit dan dicuci 2 kali dengan PBS, pH 7,4 yang per liter mengandung 8 g NaCl, 0,34 KH₂PO₄, dan 1,21 K₂HPO₄. Sel disuspensikan kembali dalam *buffer* yang sama hingga mencapai OD akhir pada 550 nm: $0,60 + 0,02$ (diukur dengan spektrofotometer). Suspensi dari 8 galur bakteri dikombinasikan dalam pasangan untuk uji koagregasi, yang dalam hal ini koaggregasi dievaluasi dengan pemeriksaan visual akan adanya flokulasi setelah 4 jam pada suhu ruangan. Volume 4 ml dari suspensi sel yang sudah dicuci dari tiap galur dari pasanganpasangan tersebut yang dapat memperlihatkan flokulasi diperlakukan serupa dan digunakan sebagai kontrol. Setelah pencampuran, 4 ml volume suspensi ditransfer ke *cuvette* steril, dan OD pada 550 nm dimonitor selama 24 jam pada suhu ruangan untuk menentukan kuantitas perlekatan bakteri. Koaggregasi dapat diobservasi sebagai pengurangan dalam OD550nm dibandingkan dengan OD550nm dari suspensi sel murni.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian kualitatif yang bertujuan untuk melihat kemampuan daya agregasi yang ditandai adanya endapan di dasar tabung uji, serta penempelan bakteri asam laktat (BAL) dari usus *Day old chick* (DOC) broiler spesies *Pediococcus* sp. pada permukaan mukosa usus ditandai dengan adanya koloni *Pediococcus* sp. terlihat di antara jaringan epitel usus mencit. Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 6 Juni-18 Juli 2016 di Laboratorium Kesehatan Hewan, Sekolah Tinggi Penyuluhan Pertanian (STPP) Gowa Sulawesi Selatan Indonesia.

B. Pendekatan Penelitian

Penelitian ini menggunakan pendekatan deskriptif didasarkan pada daya agregasi (autoagregasi *Pediococcus* sp. maupun koagregasi *Pediococcus* sp. dengan *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*) dan kemampuan *Pediococcus* sp. dari usus DOC broiler ini menempel di permukaan usus halus mencit (*Mus musculus*) sehingga dapat dijadikan sebagai kandidat bakteri probiotik.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah wilayah generalisasi yang terdiri dari objek atau subjek yang menjadi kuantitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti. Populasi menggambarkan berbagai karakteristik subjek penelitian untuk

kemudian menentukan pengambilan sampel. Berdasarkan pemahaman tersebut, maka penentuan populasi dalam penelitian ini adalah mikroorganisme dari usus DOC broiler.

2. Sampel

Sampel adalah bagian dari populasi yang diharapkan mampu mewakili populasi dalam penelitian. Adapun sampel dalam penelitian ini adalah bakteri asam laktat dari usus DOC broiler spesies *Pediococcus* sp. Dalam penyusunan sampel perlu disusun kerangka sampling yaitu daftar dari semua unsur dalam populasi sampling. Teknik pengambilan sampling pada penelitian ini adalah menggunakan random sampling. Teknik sampling ini dipandang peneliti dapat mempermudah pemilihan sampel dengan memilih secara acak sampel yang diteliti atas dasar acuan berupa terbentuknya agregat di dasar tabung sampel uji yakni *Pediococcus* sp. dengan *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*, serta adanya *Pediococcus* sp. yang menempel ditandai dengan terlihatnya koloni bakteri diantara jaringan epitel dan mukos gel yang melapisi permukaan jaringan epitel sampel usus halus mencit.

D. Variabel Penelitian

Penelitian ini hanya terdiri dari satu macam variabel, yaitu daya agregasi bakteri asam laktat (BAL) yang terdapat pada usus DOC broiler sehingga dapat dikategorikan sebagai kandidat probiotik.

E. Metode Pengumpulan Data

Data dalam penelitian ini dikumpulkan dengan menggunakan metode percobaan laboratorium, yang digunakan untuk mengamati daya agregasi (baik

autoagregai maupun koagregai) sampel bakteri *Pediococcus* sp. dari usus DOC broiler, yaitu dengan mengamati terbentuknya agregat pada dasar tabung dan suspensi media uji terlihat keruh akibat autoagregasi antara *Pediococcus* sp. dengan *Pediococcus* sp. lainnya dan koagregasi antara *Pediococcus* sp. dengan *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*, dengan waktu inkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Autoagregasi dapat terjadi karena setiap bakteri yang berinteraksi melibatkan interaksi komponen permukaan sel seperti sel dalam usus DOC broiler serta adanya cairan protein. Daya autoagregasi dan koagregasi dibuktikan lebih lanjut dengan mengamati penempelan *Pediococcus* sp. pada permukaan epitel usus mencit (*Mus musculus*) setelah dikutivasi pada MRS Agar pada suhu 37⁰C selama 24 jam yang ditandai dengan terlihatnya koloni bakteri diantara jaringan epitel dan mukus gel yang melapisi permukaan jaringan epitel sampel usus halus mencit baik makroskopik maupun mikroskopik kemudian mendokumentasikannya.

F. Instrument Penelitian (Alat dan Bahan)

1. Alat

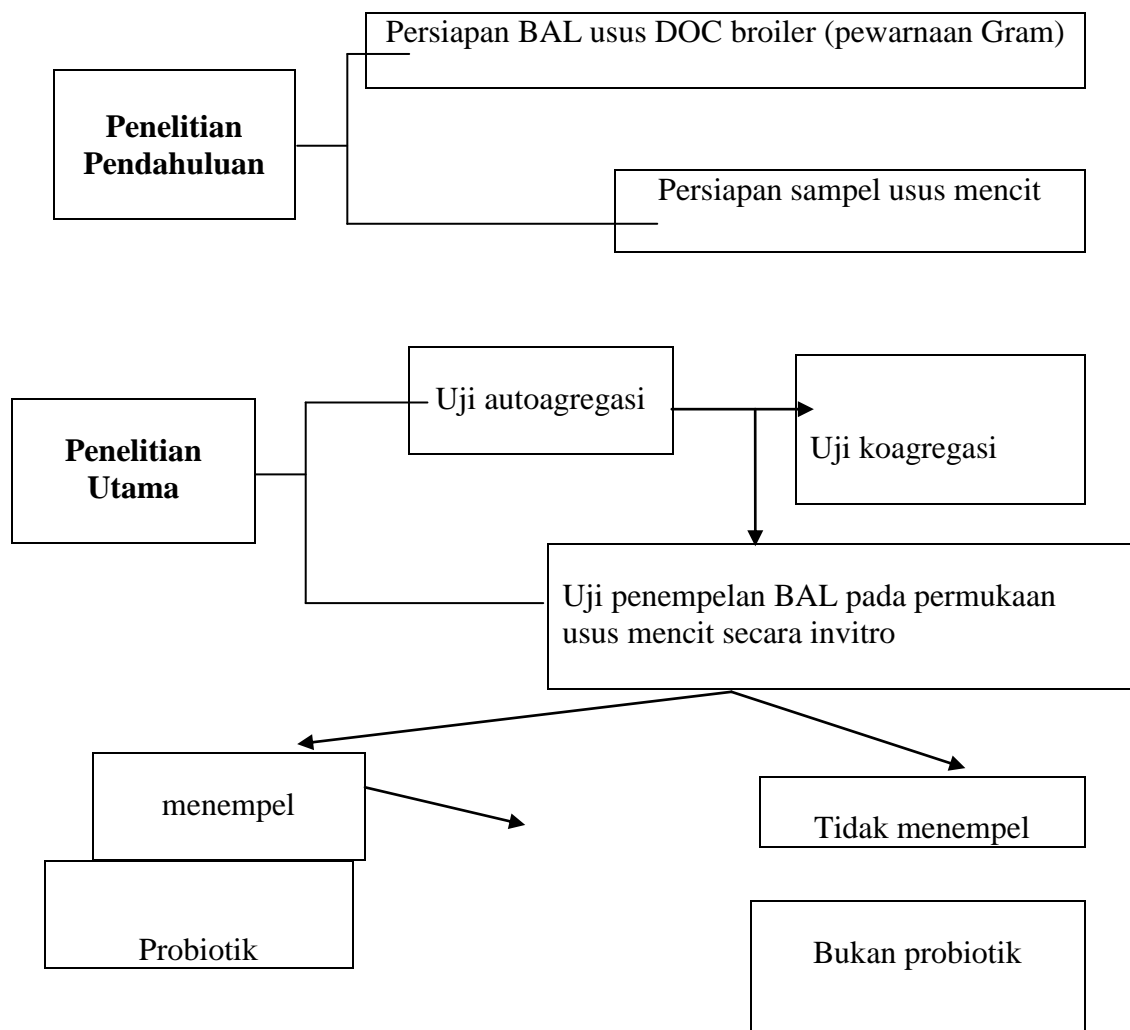
Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah LFC (*Laminar flow cabiliti*), inkubator, *Hot plate digital*, autoklaf, mikroskop, Aluminium foil, batang pengaduk, bunsen, cawan petri, erlenmeyer, gelas objek, gelas ukur, gunting bedah, lemari es, jarum ose, mikropipet, tabung reaksi, rak tabung reaksi, timbangan digital, penjepit tabung, pinset, spoit.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah usus DOC broiler yang diambil ususnya, kultur bakteri *Staphylococcus aureus*, kultur bakteri *Salmonella thypi*, medium selektif MRSA (*deMann Ragosa Sharpe Agar*) 6,08 Gram, MRSB (*deMann Ragosa Sharpe Broth*), usus mencit (*Mus musculus*), larutan PBS (*Phospat buffer soline*) Ph 5 100 ml, *Amoxicilin* cair 5 mg, pakan mencit (pakan starter). aquadest, kapas, larutan alkohol 96%.

G. Prosedur Kerja

Penelitian ini dibagi dalam dua tahap. Tahap pertama merupakan penelitian pendahuluan serta tahap kedua merupakan penelitian utama. Diagram alir penelitian yang dilakukan secara garis besar dilihat pada bagan 1.1





1. Tahap persiapan

a. Sterilisasi Alat dan Medium

1. Sterilisasi menggunakan Autoklaf

Media dan alat diseterilkan dengan tekanan tinggi menggunakan autoklaf pada tekanan 15 Psi dengan suhu 121°C selama 30 menit. Medium yang disterilkan adalah median MRSB (*deMann Rogosa Sharpe Broth*) dan medium (*deMann Rogosa Sharpe Agar*), PBS (*Phospat buffer soline*), sedangkan alat yang disterilkan cawan petri, erlenmeyer, gelas ukur, gunting bedah, mikropipet, tabung reaksi, rak tabung reaksi.

2. Sterilisasi secara kimiawi

Peralatan yang digunakan dalam pembedahan DOC broiler dan pembedahan mencit juga dapat dilakukan sterilisasi secara kimiawi menggunakan alkohol 70%, dengan cara merendam atau menyemprotkannya pada pinset dan gunting bedah.

3. Sterilisasi menggunakan bunsen

Alat yang terbuat dari kawat platina seperti kawat ose, disterilkan dengan menggunakan bunsen dengan cara membakar ose di atas api sampai pijar, disamping itu juga digunakan dalam pekerjaan secara aseptis untuk menghindari terjadinya kontaminasi.

4. Sterilisasi aquadest

Aquadest dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditutup dengan kapas kemudian disterilkan ke dalam autoklaf pada tekanan 15 Psi dengan suhu 121°C selama 30 menit.

b. Pembuatan media

Pembuatan media MRSA (*deMann Rogosa Sharpe Agar*) diawali dengan menimbang 6,08 Gram menggunakan timbangan digital. Kemudian dimasukkan ke dalam gelas kimia, ditambahkan aquadest sebanyak 100 ml. Selanjutnya dilarutkan dengan *hot plate magnetic stirrer*. Setelah semua homogen kemudian kemudian diangkat dan disterilkan dengan menggunakan autoklaf. Kemudian media MRSA setelah dingin kemudian di tuang di cawan petri di LFC.

Menurut Dwyana dkk. (2012), Pembuatan medium MRSA (*Man Ragosa Sharpe Agar*) dengan cara: sebanyak 6,2 Gram medium MRSA dan CaCO_3 1% dilarutkan ke dalam 100 mL air suling dan dibuat dalam pH 6,2. Kemudian dipanaskan sambil diaduk sampai homogen. Selanjutnya larutan dibagi ke dalam 4 buah erlenmeyer masing-masing sebanyak 25 mL. Kemudian mulut masing-masing erlenmeyer ditutup dengan menggunakan aluminium foil lalu disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

2. Tahap Pelaksanaan

a. Persiapan bakteri asam laktat (BAL) dari usus DOC broiler

Persiapan bakteri asam laktat yang digunakan dalam pengujian auotoagregasi dan koagregasi serta penempelan terhadap usus mencit (*in vitro*). Bakteri uji yang digunakan yaitu bakteri asam laktat, *Stahylococcus aureus* dan

Salmonella thypi. Karakteristik berupa morfologi diperiksa untuk konfirmasi kemurnian bakteri asam laktat yang digunakan. Pengamatan morfologi bakteri dilakukan melalui pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara bakteri asam laktat kultur muda (24 jam) diambil satu mata ose kemudian dioleskan pada objek gelas lalu ditetesi larutan *Crystal violet*, larutan lugol, alkohol 95% (bahan pemucat) dan larutan safranin. Bakteri yang diwarnai, dicuci dari sisa pewarna dan dikeringkan, kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x dengan bantuan minyak imersi. Bakteri yang telah diwarnai dengan metode ini dibagi menjadi dua kelompok, yaitu bakteri Gram positif, bila bakteri dapat mempertahankan zat warna *Crystal violet* dan tampak berwarna ungu tua. Kelompok bakteri Gram negatif akan terlihat berwarna merah, karena pada saat dicuci dengan alkohol tidak dapat mempertahankan warna ungu sehingga sewaktu diberi pewarna tandingan dengan warna merah safranin bakteri menyerap warna tersebut dan tampak berwarna merah.

Menurut Pelczar dkk. (2007), persiapan bakteri asam laktat yang digunakan dalam pengujian agregasi, autoagregasi, koagregasi dan penempelan terhadap usus tikus (*in vitro*), Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara bakteri asam laktat kultur muda (24 jam) diambil satu mata jarum ose, kemudian dioleskan pada gelas objek. Gelas objek tersebut difiksasi (dilewatkan diatas api Bunsen), lalu ditetesi larutan-larutan dengan urutan berikut: ungu kristal (UK), larutan yodium, alkohol 95% (bahan pemucat) dan safranin. Bakteri yang telah diwarnai dicuci dari sisa pewarna dan dikeringkan, kemudian diamati dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x dengan bantuan minyak imersi.

Bakteri yang telah diwarnai dengan metode ini dibagi menjadi dua kelompok, yaitu bakteri Gram positif, bila bakteri dapat mempertahankan zat warna ungu kristal dan tampak berwarna ungu tua. Kelompok yang lain yaitu bakteri Gram negatif akan terlihat berwarna merah, karena pada saat dicuci dengan alkohol tidak dapat mempertahankan warna ungu sehingga sewaktu diberi pewarna tandingan dengan warna merah safranin bakteri menyerap warna tersebut dan tampak berwarna merah.

b. Peremajaan mikroba uji

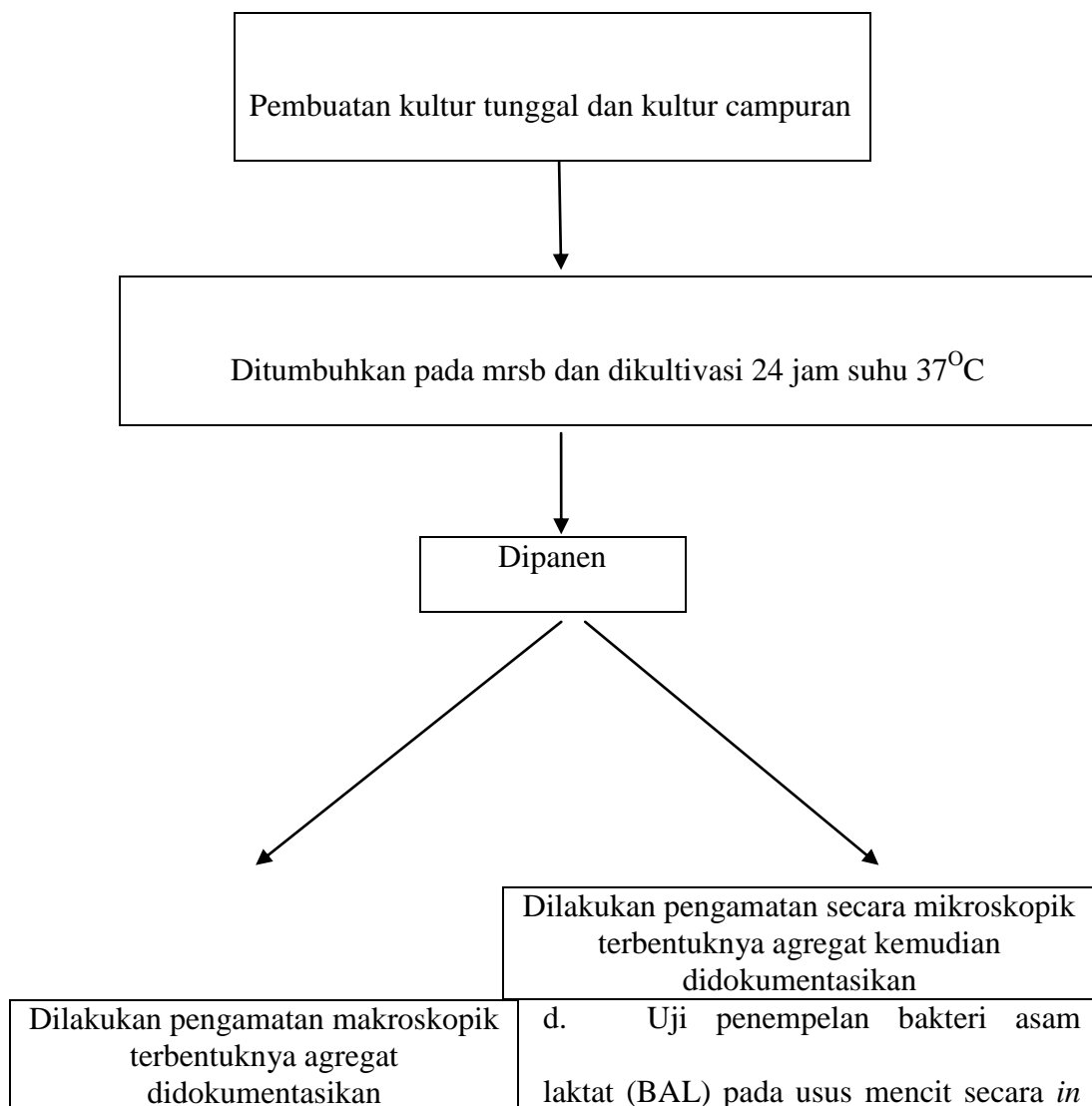
Bakteri *Pediococcus* sp. diambil sebanyak 1 mata ose yang telah dikultur sebelumnya di laboratorium, kemudian diinokulasikan dengan cara digores pada mediaum MRSA (*deMann Ragoso Sharpe Agar*) miring.

c. Uji Autoagregasi dan Koagregasi

Uji autoagregasi dilakukan untuk mengetahui kemampuan suatu bakteri untuk membentuk koloni (agregat). Pada uji ini, bakteri *pedioccus* sp. ditumbuhkan pada MRSB selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Menurut jankovic dkk. (2003), agregasi dinilai positif jika pada dasar tabung reaksi yang menggunakan media MRSB didapatkan agregat yang jelas (partikel seperti pasir dinamakan pellet) membentuk endapan dan supernatant akan terlihat jernih. Sedangkan uji koagregasi, bakteri uji (*Pediococcus* sp. dengan *Staphylococcus aureus*, *Pediococcus* sp. dengan *Salmonella thypi*) ditumbuhkan pada MRSB selama 24 jam pada suhu 37°C. Menurut Simoes dkk. (2008), penelitian koagregasi adalah sebagai berikut level A, jika tidak ada koagregat terlihat dalam suspensi sel, level B, jika koagregat terlihat sangat kecil dalam suspensi keruh, level C, jika

koagregat kecil mudah terlihat dalam suspensi keruh, level D, jika koagregat terlihat jelas yang menetap, meninggalkan supernatan yang jelas, level E, jika gumpalan sangat besar koagregatnya yang menetap hampir seketika meninggalkan supernatan yang jelas. Hal ini merupakan pengamatan secara makroskopik kemudian didokumentasikan. Selanjutnya, pengamatan secara mikroskop kemudian didokumentasikan.

Tahapan proses pengujian autoagregasi BAL dapat dilihat pada bagan 3.2



Pengujian penempelan (adhesi) *Pediococcus* sp. sebagai kandidat probiotik secara *in vitro* dilakukan dengan mengamati penempelannya pada usus mencit yang ditandai dengan adanya koloni *Pediococcus* sp. terlihat pada pengamatan jaringan usus halus mencit setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Perlakuan ini bertujuan untuk mengetahui penempelan *Pediococcus* sp. pada usus bersifat permanen, artinya *Pediococcus* sp. tetap menempel pada jaringan epitel usus halus setelah tercuci oleh berbagai macam cairan makanan yang melewati usus tersebut atau penempelan *Pediococcus* sp. pada usus bersifat sementara, artinya *Pediococcus* sp. hanya tersangkut pada lekukan mikrovili usus setelah tercuci oleh berbagai macam cairan makanan yang melewati usus tersebut.

Sampel usus mencit harus bebas dari mikroflora saluran pencernaan mencit. Oleh karena itu, mencit yang akan digunakan ususnya dipelihara terlebih dahulu dengan perlakuan awal yaitu mencekoknya dengan antibiotik (*Amoxicilin*) dengan pemberian selama lima hari. Pada perlakuan H0-H5 (hari pertama perlakuan sampai hari kelima) dosis *Amoxicilin* yang diberikan yaitu 5 mg sebanyak 0,2 ml per hari. Selanjutnya, H6-H11 (hari ke enam sampai hari ke sebelas) enam hari berikutnya hanya diberikan pakan berupa pelet starter broiler sebanyak 30 Gram per hari. Penghentian pemberian *Amoxicilin* selama enam hari sebelum mencit tersebut dibedah berguna untuk menghindari penimbunan residu *Amoxicilin* dalam jaringan terutama pada jaringan usus halus mencit yang akan digunakan.

Sampel usus mencit yang digunakan diambil dengan cara membedah mencit yang telah dianestesi dengan cara memasukkan mencit ke dalam kantong plastik tanpa ada udara sampai mati.

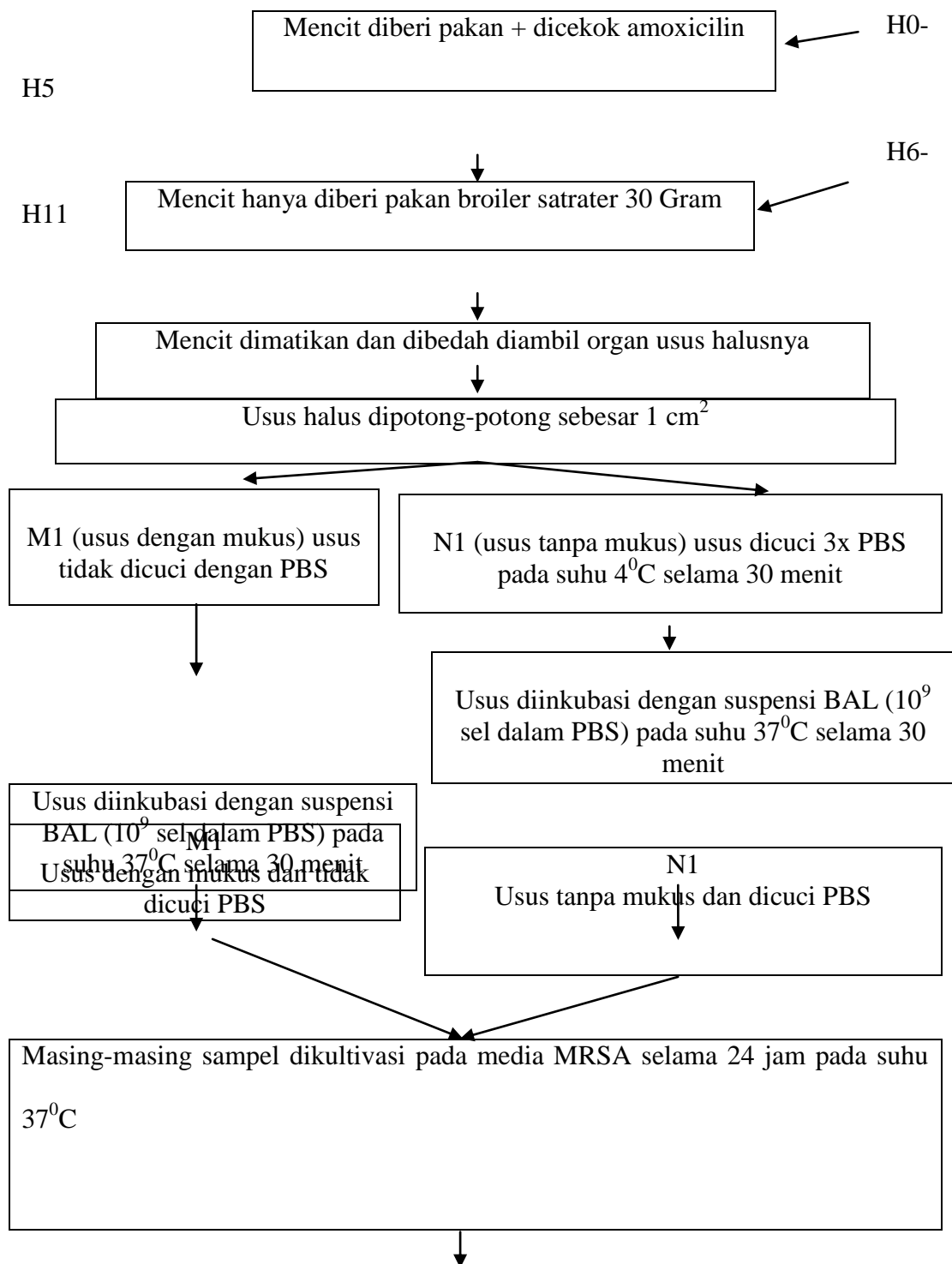
Pengujian penempelan BAL pada usus tikus secara *in vitro* dengan dimodifikasi perlakuan pada usus dengan mukus dan usus tanpa mukus. Sampel usus halus tikus yang sebelumnya telah mendapat perlakuan dipotong-potong dengan ukuran 1 cm^2 kemudian dibagi ke dalam beberapa kelompok perlakuan yaitu kontrol usus yang tidak dicuci dengan larutan PBS (M1) dan kontrol usus tikus yang dicuci sebanyak tiga kali dengan larutan PBS (N1). Pencucian dengan PBS dilakukan pada suhu 4°C selama 30 menit untuk menghilangkan mukus pada permukaan usus.

Sampel usus mencit dari kedua perlakuan kemudian diinkubasi dengan suspensi bakteri (10^9 sel dalam PBS) pada suhu 37°C selama 30 menit. Suspensi bakteri yang digunakan yaitu bakteri asam laktat (BAL) dari usus DOC broiler. Masing-masing kelompok usus yang telah diinkubasi dibagi lagi menjadi dua kelompok perlakuan yaitu usus yang tidak dicuci larutan PBS (M1) dan usus yang dicuci dua kali dengan larutan PBS (N1), sehingga terdapat dua perlakuan dalam pengujian tersebut.

Semua usus yang telah mendapatkan perlakuan (M1N1) kemudian dievaluasi keberadaan bakteri BAL yang menempel secara kualitatif dengan melihat adanya pertumbuhan setelah dikultivasi pada MRSA dari suspensi usus pasca inkubasi dalam larutan suspensi bakteri $1,2 \times 10^9$ sel ml^{-1} dalam PBS selama

24 jam pada suhu 37⁰C. Kemudian diamati secara mikroskopis dan hasilnya didokumentasikan. Tahapan proses penempelan BAL pada

usus mencit secara *in vitro* dapat dilihat pada bagan 3.3.



Pengamatan secara mikroskopik dan didokumentasikan
--

H. Teknik Pengolahan dan Analisis Data

Dalam penelitian kualitatif ini kegiatan analisis data meliputi pengkajian berdasarkan analisis deskriptif. Data dari hasil pengujian agregasi berupa pengamatan terbentuknya agregat (endapan) pada tabung uji dan suspensi media terlihat keruh setelah diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam, sedangkan data dari hasil pengamatan penempelan *Pediococcus* sp. pada sampel usus halus mencit berupa pengamatan mikroskopik adanya koloni *Pediococcus* sp. yang menempel ditandai dengan terlihatnya koloni bakteri diantara jaringan epitel dan mukus gel yang melapisi permukaan jaringan epitel sampel usus halus mencit. Adapun teknik pengolahan data yang digunakan yaitu hasil pengamatan uji agregasi dan penempelan *Pediococcus* sp. pada sampel usus halus mencit ditampilkan dalam bentuk gambar.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

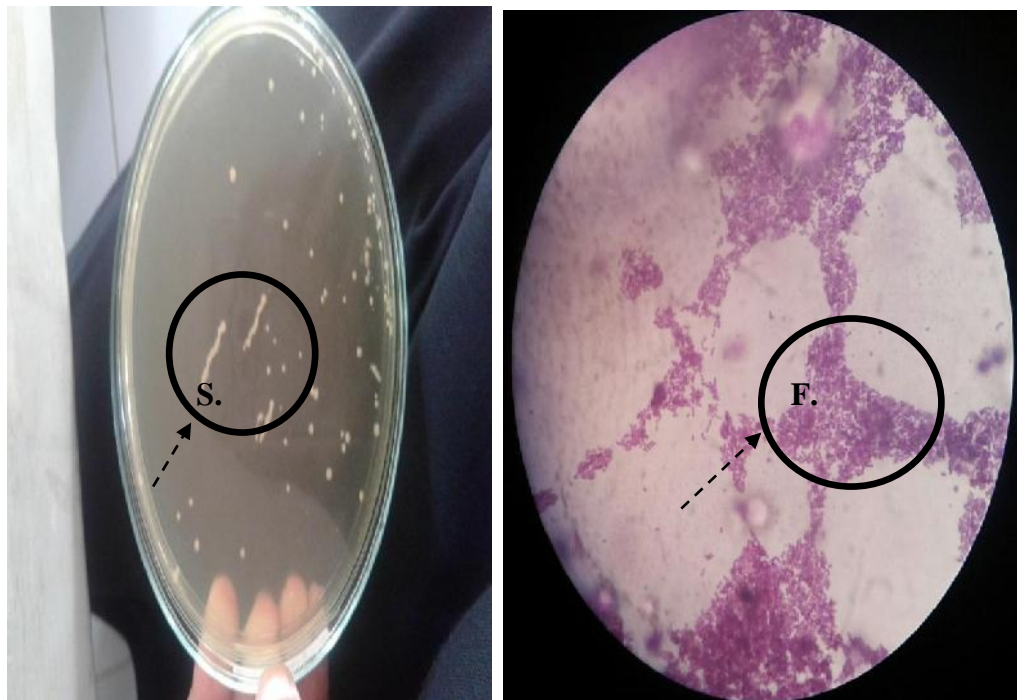
A. Hasil Penelitian

1. Persiapan Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Usus DOC Broiler

Hasil karakterisasi bakteri asam laktat dari usus DOC broiler menunjukkan spesies *Pediococcus* sp. yang berbentuk bulat-bulat, Gram positif karena berwarna ungu. Seperti Gambar 1.1.

a.) setelah diinkubasi

b.) pengamatan mikroskopis



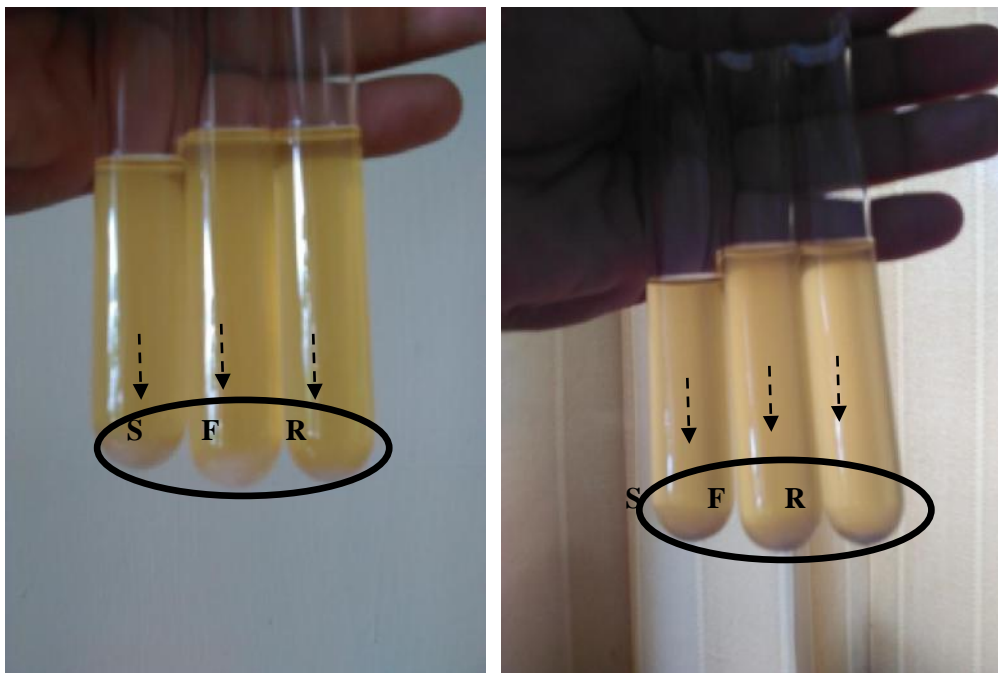
Gambar 1.1 huruf (S) hasil dari pemurnian *Pediococcus* sp. dan huruf (F) menunjukkan koloni *Pediococcus* sp. yang diamati dengan mikroskop, morfologi *Pediococcus* sp. yang terdapat pada gambar a.) sebelum dilakukan pewarnaan, b.) setelah dilakukan pewarnaan dengan perbesaran lensa 1000x. (Sumber: *Laboratorium Kesehatan Hewan STPP Gowa*).

2. Autoagregasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Usus DOC Broiler

Hasil autoagregasi *Pediococcus* sp. dari usus DOC broiler menunjukkan autoagregasi positif karena adanya endapan di dasar tabung teksturnya seperti pasir disertai suspensi media yang jernih di atasnya setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C, yang dapat dilihat pada gambar 1.2. Menurut jankovic dkk. (2003), agregasi dinilai positif jika pada dasar tabung reaksi yang menggunakan media MRSB didapatkan agregat yang jelas (partikel seperti pasir dinamakan pellet) membentuk endapan dan supernatant akan terlihat jernih.

a.) Sebelum di inkubasi

b.) setelah di inkubasi

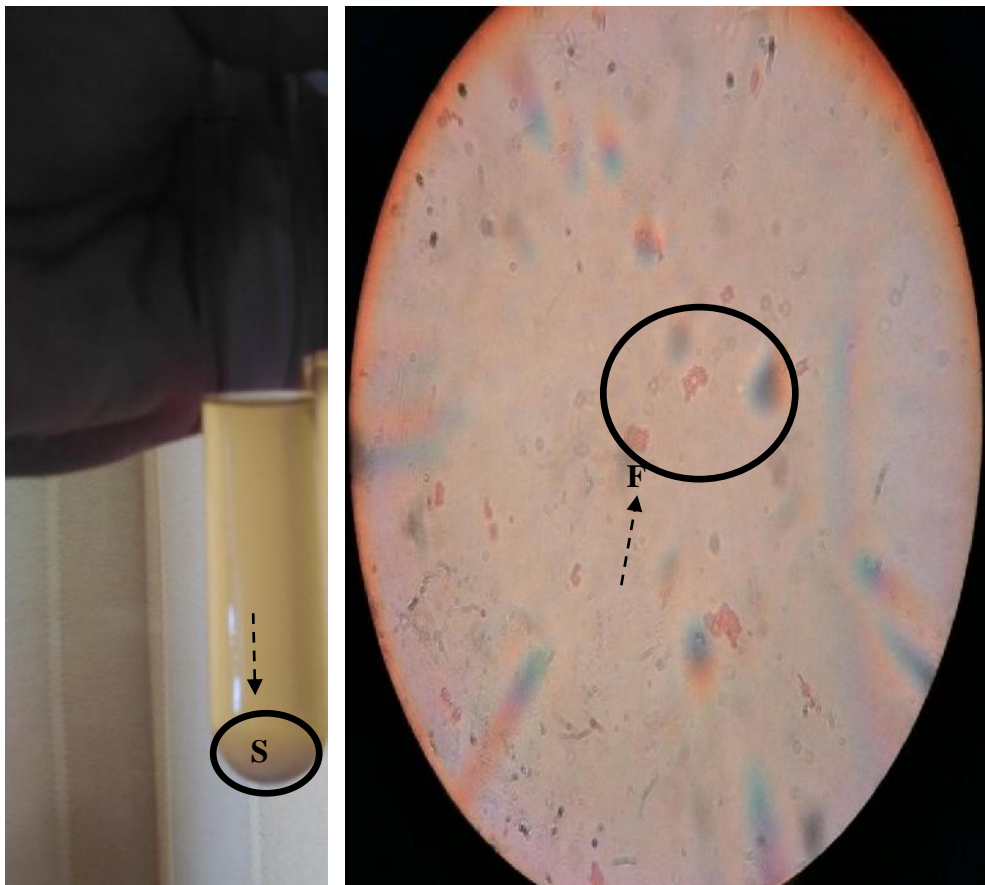


Gambar 1.2 Huruf (S) *Pediococcus* sp., huruf (F) *Staphylococcus aureus* huruf (R) *Salmonella thypi*. Perbandingan Autoagregasi Bakteri Asam Laktat *Pediococcus* sp. (a) Sebelum Inkubasi (tidak terdapat endapan), (b) Setelah Inkubasi (terdapat endapan) pada suhu 37⁰C selama 24 jam. (Sumber: *Laboratorium Kesehatan Hewan STPP Gowa*).

Sedangkan hasil pengamatan secara mikroskopik terdapat *Pediococcus* sp. memperlihatkan gabungan koloni-koloni bakteri yang saling menempel satu sama

lain Gambar 1.3 sebagai bukti bahwa terjadi interaksi satu sama lain pada bakteri *Pediococcus* sp. ini dalam media yang dikenal dengan istilah autoagregasi.

a.) setelah di inkubasi b.) pengamatan mikroskopis



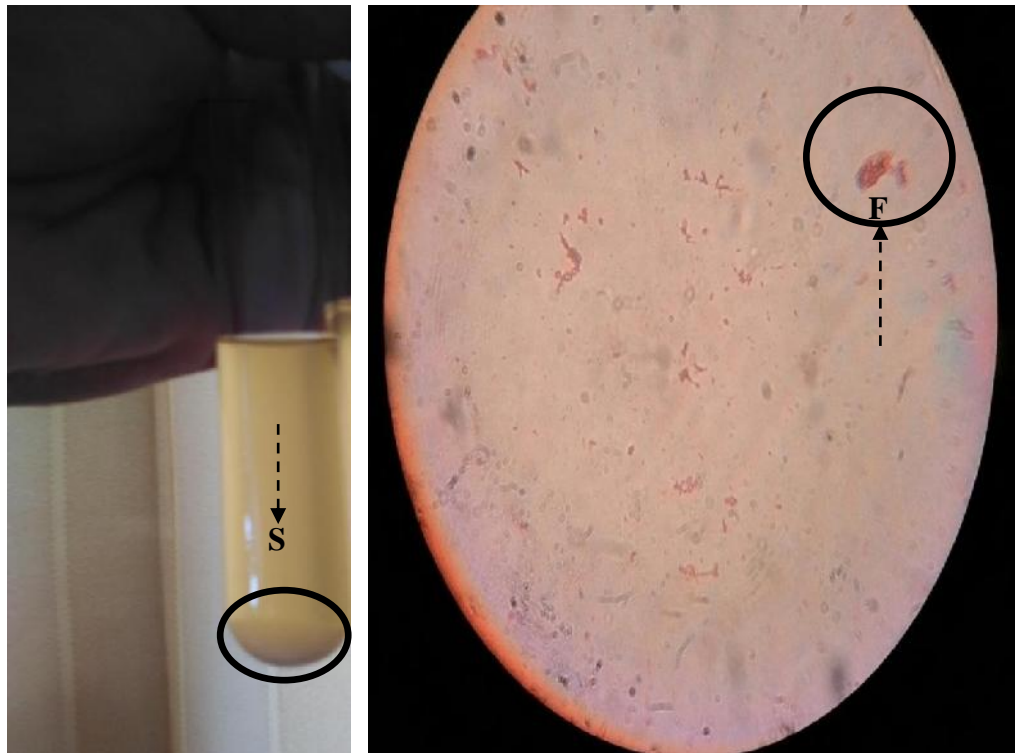
Gambar 1.3 Huruf (S) *Pediococcus* sp., huruf (F) koloni *Pediococcus* sp. yang diamati secara mikroskopik. Autoagregasi *Pediococcus* sp. dari usus DOC broiler (a), makroskopik, dan (b), pengamatan secara mikroskopik dengan perbesaran lensa objektif 1000x). (Sumber: *Laboratorium Kesehatan Hewan STPP Gowa*).

3. Koagregasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Usus DOC broiler

Hasil pengamatan koagregasi *Pediococcus* sp. dengan *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 1.4 dengan menunjukkan level D karena koagregat terlihat jelas serta interaksi antara koloni *Pediococcus* sp. dengan

Sthapylococcus aureus yang saling menempel satu sama lain meskipun dalam proses inkubasi hanya 1x24 jam pada suhu 37⁰C.

a.) Setelah di inkubasi b.) pengamatan mikroskopis

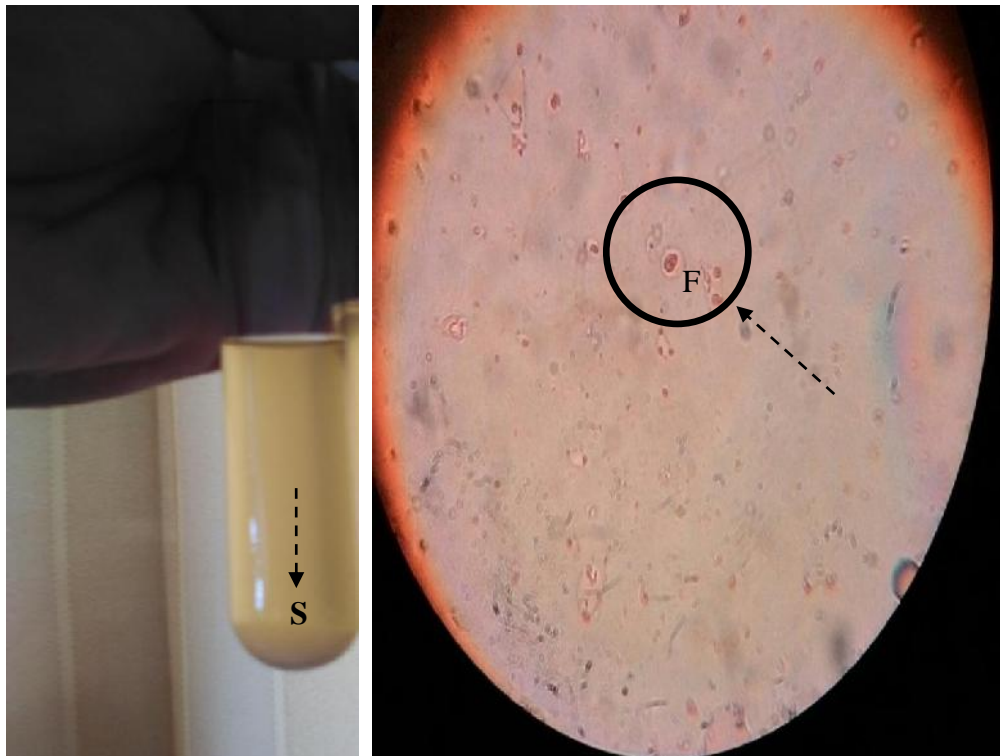


Gambar 1.4 Huruf (S) Koagregasi *Pediococcus* sp. dengan *Sthapylococcus aureus*, huruf (F) koloni dari *Pediococcus* sp. dengan *Sthapylococcus*. (1=*Pediococcus* sp. 2= *Sthapylococcus aureus* 3=Reaksi koagregasi, a.) pengamatan secara makroskopik dan b.) pengamatan secara mikroskopik dengan perbesaran lensa objektif 1000x). (Sumber: *Laboratorium Kesehatan Hewan STPP Gowa*).

Hasil pengamatan koagregasi *Pediococcus* sp. dengan *Salmonella thypi* gambar 1.5 menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh bahwa berada pada level D karena koagregat terlihat jelas yang menetap di dasar tabung dan meninggalkan supernatan yang jelas serta terlihat interaksi antara koloni *Pediococcus* sp. dengan

Salmonella thypi yang saling menempel satu sama lain meskipun jumlahnya tidak banyak dengan masa inkubasi 1x24 jam pada suhu 37⁰C.

a.) Setelah di inkubasi b.) pengamatan mikroskopis

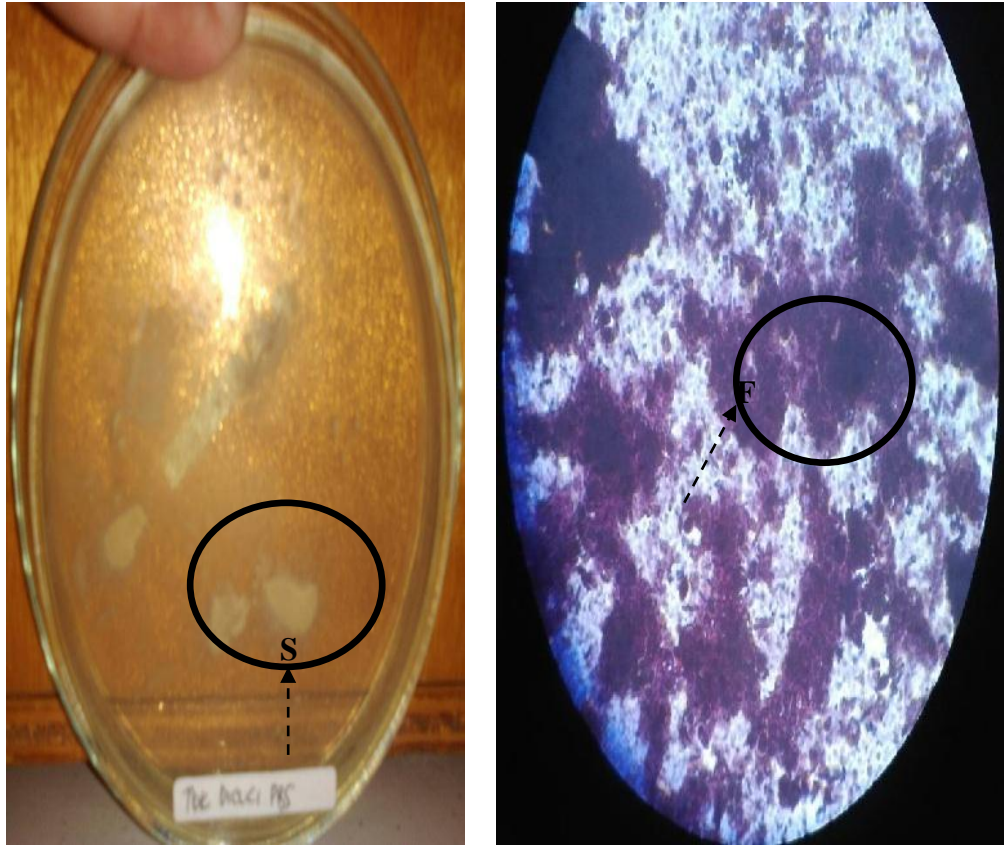


Gambar 1.5 Huruf (S) Koagregasi *Pediococcus* sp. dengan *Staphylococcus thypi*, huruf (F) koloni dari hasil pengamatan secara mikroskopik, (1= *Pediococcus* sp., 2= *Salmonella thypi*, 3=reaksi koagregasi, a.) a.) pengamatan secara makroskopik dan b.) pengamatan secara mikroskopik dengan perbesaran lensa objektif 1000x). (Sumber: *Laboratorium Kesehatan Hewan STPP Gowa*).

4. Uji Penempelan *Pediococcus* sp. pada usus mencit secara *in vitro*

Hasil pengamatan menggunakan Gram pada preparat usus halus yan telah diinkubasi dengan *Pediococcus* sp. dengan perlakuan M1. Menunjukkan adanya penempelan sebagaimana yang terlihat pada gambar 1.6 sebagai berikut.

a.) tidak di cuci PBS b.) pengamatan mikroskopis

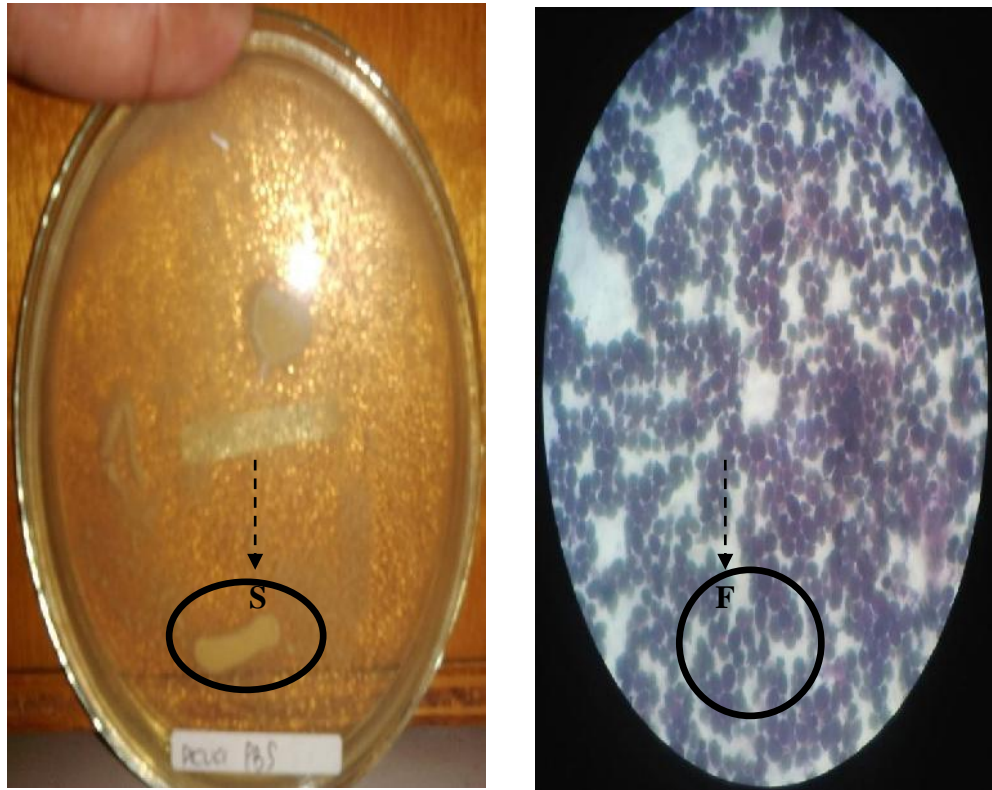


Gambar 1.6 Huruf (S) usus DOC yang tidak dicuci dengan PBS, huruf (F) menunjukkan koloni dari *Pediococcus* sp. yang diisolasi dari usus mencit dengan perlakuan M1 (a=pengamatan secara makroskopik dan b=pengamatan secara mikroskopik dengan menggunakan perbesaran lensa objek 1000x). (Sumber: *Laboratorium Kesehatan Hewan STPP Gowa*).

Hasil pengamatan menggunakan Gram pada preparat usus halus yang telah diinkubasi dengan *Pediococcus* sp. dengan perlakuan N1 dapat dilihat pada gambar 1.7 menunjukkan bahwa adanya penempelan. Hal ini membuktikan bahwa *Pediococcus* sp. dapat berkolonisasi pada lekukan membran mikrovili namaun terlihat pula pada lekukan adanya tersangkut pada lekukan mikrovili usus mencit. Gambar 1.7.

a.) Di cuci dengan PBS

b.) pengamatan mikroskopis



Gambar 1.7. Huruf (S) usus mencit dicuci dengan PBS, huruf (F) koloni *Pediococcus* sp. yang telah diisolasi dari usus mencit dengan perlakuan N1 (a=pengamatan secara makroskopik dan b=pengamatan secara mikroskopik pada perbesaran lensa objektif 1000x). (Sumber: *Laboratorium Kesehatan Hewan STPP Gowa*).

B. Pembahasan

1. Persiapan Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Usus DOC Broiler

Bakteri asam laktat yang didapatkan dalam penelitian ini adalah bakteri asam laktat spesies *Pediococcus* sp. yang berhasil diisolasi dari usus DOC. Sebelum bakteri asam laktat ini diuji untuk melihat karakteristik agregasi dan koagregasinya serta melihat tingkat penempelannya terlebih dahulu dikonfirmasi sifat kemurnian bakterinya terlebih dahulu dilakukan pengamatan morfologi, sifat oksidasi, sifat katalase dengan menggunakan pewarnaan Gram yang dilakukan pada bakteri uji yakni *Pediococcus* sp.

Menurut Gibson dan Angus (2000), mengatakan bahwa Bakteri Asam Laktat (BAL) didefinisikan sebagai suatu kelompok bakteri Gram positif yang disatukan oleh berbagai morfologi. BAL secara umum tidak berspora, berbentuk bulat atau batang yang memproduksi asam laktat sebagai produk akhir metabolik utama selama fermentasi karbohidrat. BAL biasa digunakan di dalam industri makanan. Karthikeyan dan Santosh (2009), mengatakan bahwa bakteri asam laktat mampu menurunkan pH makanan, sehingga pada pH rendah pertumbuhan sebagian besar mikroorganisme yang terdapat di dalam makanan termasuk bakteri patogen dapat terhambat dan mampu memperpanjang umur simpan makanan.

Pewarnaan Gram yang dilakukan pada sampel usus DOC broiler atau bakteri asam laktat yang berhasil diisolasi yaitu menunjukkan bahwa spesies bakteri *Pediococcus* sp. yang menunjukkan Gram positif. Hal ini sesuai dengan pendapat Kaur dkk. (2012), yang menyatakan bahwa bakteri *Pediococcus* sp. merupakan strain Gram positif cocci yang susunan sel-selnya membentuk tetrad dengan permukaan cembung dan halus.

Sedangkan menurut pendapat Victoria Moreno-Arribas M dkk (2008), menyatakan bahwa *Pediococcus* sp. adalah genus [bakteri](#) yang termasuk [bakteri asam laktat](#) (BAL) dengan ciri non-motil (tidak bergerak) dan memiliki bentuk sferis. Sel bakteri ini terbagi ke dalam dua bidang sehingga membentuk pasangan, tetrad (terususun empat), atau gumpalan sel sferis yang lebih besar. Genus *Pediococcus* sp. termasuk golongan fakultatif anaerob dan untuk hidup memerlukan lingkungan yang kaya nutrisi serta mengandung faktor pertumbuhan

dan gula yang dapat difermentasi. Bakteri ini termasuk homofermentatif (hanya menghasilkan [asam laktat](#)) dan tidak dapat menggunakan pentosa (karbohidrat beratom C₅).

2. Autoagregasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Usus DOC Broiler

Daya autoagregasi bakteri asam laktat (BAL) dari usus DOC broiler yang diperoleh yaitu menunjukkan bahwa terjadinya endapan seperti pasir didasar tabung reaksi sehingga dapat dikatakan bersifat positif karena bakteri *Pediococcus* sp. mengalami proses agregasi setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C.

Daya autoagregasi merupakan suatu interaksi antara koloni *Pediococcus* sp. yang satu dengan koloni *Pediococcus* sp. yang lain atau koloni *Pediococcus* sp. dengan koloni spesies bakteri yang lain yang dikulturkan pada media MRSB. Daya autoagregasi dapat terbukti positif jika pada dasar tabung reaksi terdapat endapan dan bersifat negatif apabila pada dasar tabung reaksi tidak terdapat endapan setelah mengalami proses inkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C.

Menurut Jankovic *et al.*, (2003), pada uji ini *Lactobacillus* spp. ditumbuhkan pada MRS *broth* (Oxoid, CM 359) selama semalam pada suhu 37⁰C. Agregasi dinilai positif jika pada *Broth* didapatkan agregat yang jelas (partikel seperti pasir) membentuk endapan didasar tabung, dan supernatan akan terlihat jernih.

3. Koagregasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Usus DOC broiler

Berdasarkan dari hasil karakterisasi pada bakteri asam laktat dari usus DOC broiler menunjukkan adanya spesies *Pediococcus* sp. yang berbentuk bulat-tetrad dan bersifat Gram positif.

Hasil pengamatan menunjukkan adanya sifat koagregasi karena bakteri *Pediococcus* sp. dengan *Staphylococcus aureus* menunjukkan adanya koagregat pada dasar tabung dapat dilihat pada Gambar 1.4 dengan menunjukkan level D karena koagregat terlihat jelas serta interaksi antara koloni *Pediococcus* sp. dengan *Staphylococcus aureus* yang saling menempel satu sama lain meskipun dalam proses inkubasi hanya 1x24 jam pada suhu 37⁰C.

Sedangkan dengan hasil pengamatan antara *Pediococcus* sp. dengan *Salmonella thypi*, juga terbukti terjadi koagregasi dan dapat dilihat pada gambar 1.5 menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh bahwa berada pada level D karena koagregat terlihat jelas yang menetap di dasar tabung dan meninggalkan supernatan yang jelas serta terlihat interaksi antara koloni *Pediococcus* sp. dengan *Salmonella thypi* yang saling menempel satu sama lain meskipun jumlahnya tidak banyak dengan masa inkubasi 1x24 jam pada suhu 37⁰C.

Koagregasi merupakan uji yang dilakukan terhadap bakteri asam laktat yang bertujuan untuk mengetahui bahwa *Pediococcus* sp. yang diisolasi tergolong dalam probiotik. Hasil uji koagregasi juga menunjang proses penempelan *Pediococcus* sp. pada permukaan mukosa usus. Uji koagregasi dilakukan dengan *Pediococcus* sp. dengan bakteri patogen yang sering menginfeksi saluran pencernaan pada hewan ternak seperti *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*.

Menurut Simoes dkk. (2008), penilaian koagregasi adalah sebagai berikut level A, jika tidak ada koagregat terlihat dalam suspensi sel, level B, jika koagregat terlihat sangat kecil dalam suspensi keruh, level C, jika koagregat kecil mudah terlihat dalam suspensi keruh, level D, jika koagregat terlihat jelas yang menetap, meninggalkan supernatan yang jelas, level E, jika gumpalan sangat besar koagregat yang menetap hampir seketika meninggalkan supernatan yang jelas. Hal ini merupakan pengamatan secara makroskopik kemudian didokumentasikan. Selanjutnya, pengamatan secara mikroskop kemudian didokumentasikan. Mengacu pada pendapat Simoes dkk. (2008), dan mengacu pada hasil yang diperoleh pada saat pengamatan secara makroskopik terhadap sampel uji koagregasi menunjukkan bahwa level endapan dan koagregat berada pada level D, karena terlihat jelas yang menetap dan meninggalkan supernatan yang jelas.

4. Uji Penempelan *Pediococcus* sp. pada Usus Mencit Secara *In Vitro*

Pada proses pengamatan dari sampel yang telah diinkubasi selama 1x24 jam yang ditandai dengan perlakuan M1 dan N1 dimana pada proses perlakuan M1 sampel tidak dilakukan pencucian dengan PBS sama sekali dan sampel dengan N1 sampel dicuci dengan larutan PBS selama tiga kali dan masing-masing pencucian 30 menit pada suhu 4⁰C. Pada proses perlakuan M1 bakteri yang menempel pada uji secara mikroskopik sangat terlihat jelas bahwa bakteri dapat berkoloni pada dinding mukus usus yang tidak dilakukan dengan pencucian PBS dan dominan bakteri yang terlihat adalah bakteri *Pediococcus* sp. sedangkan pada proses perlakuan N1 bakteri yang menempel juga terlihat jelas, walaupun

dilakukan pencucian dengan larutan PBS, namun bakteri yang terlihat tidak sebanyak dengan yang tidak dilakukan pencucian dengan PBS.

Perlakuan pencucian pada mukus dimaksudkan untuk mengetahui pengaruh lapisan mukus terhadap daya tingkat penempelan *Pediococcus* sp. pencucian dilakukan pada suhu 4⁰C selama tiga kali pencucian dengan PBS masing-masing 30 menit rentang pencucian, sedangkan setelah diinkubasi untuk mengetahui penempelan yang terjadi mampu menempel pada permukaan mukus atau hanya bertahan pada lekukan mikrovili. Kemungkinan pula penempelan *Pediococcus* sp. pada mukus hanya bersifat sementara dan akan mudah tercuci dengan pergerakan usus, dan apabila bakteri patogen berhasil menempel pada mukus mukosa usus hal tersebut dapat menyebabkan infeksi pada usus sehingga menyebabkan proses penyerapan nutrisi terganggu sehingga dapat menyebabkan terjadinya gangguan pada saluran pencernaan.

Pada perlakuan usus yang tidak diuci dengan PBS atau tidak dihilangkan mukusnya kemungkinan bakteri yang ada pada saat pemeliharaan tetap dalam menempel pada dinding usus walaupun telah dilakukan pencekakan dengan amoxicilin pada saat proses pemeliharaan selama 6 hari dan selanjutnya hanya pemberian air minum dan pakan starter. Menurut Bourlioux dkk. (2003), yang menyatakan bahwa terdapat dua jenis mukus 1. Gel tak terlarut yang melekat pada sel 2. Lapisan kental yang larut air dan dibungkus gel. Mukus ini terbuat dari mucin yang merupakan glikoprotein yang menyusun gel tersebut. Glikoprotein ini yang dapat menyebabkan bakteri melekat secara baik, secara spesifik maupun secara alami.

Pewarnaan Gram yaitu pewarnaan yang dilakukan pada sel bakteri yang telah diinkubasi selama 1x 24 jam pada suhu 37⁰C, jenis pewarna yang digunakan bersifat basa seperti *Crystal violet* sebagai pewarna utama, kemudian dicuci lalu ditetesi *Iodin/Iugol* sebagai pewarna untuk lebih mempertajam, selanjutnya dicuci dengan alkohol sebagai peluntur zat pewarna, setelah dicuci alkohol kembali dilakukan zat pewarna *Safranin* sebagai pewarna basa merah. Pada proses pewarnaan yang dilakukan didapatkan bahwa sampel yang diuji bersifat Gram positif karena mampu mempertahankan zat warna metil ungu gelap setelah dicuci, namun dalam proses pewarnaan ada dua hal yang kemungkinan didapatkan yaitu dapat bersifat Gram positif maupun negatif.

Kemampuan bakteri *Pediococcus* sp. untuk menempel pada sel mukosa usus mencit (*Mus musculus*) menjadi salah satu karakteristiknya untuk digolongkan sebagai probiotik, kemampuan ini menjadi syarat yang sangat penting terhadap bakteri *Pediococcus* sp. untuk memberikan berbagai macam manfaat terdapat suatu perlakuan pada hewan ternak. Sedangkan apabila tidak mampu menempel pada sel mukosa usus mencit maka tidak dapat dikatakan sebagai bakteri probiotik karena tidak memberikan manfaat pada hewan ternak.

Menurut Cole. (1991), menyatakan bahwa probiotik merupakan salah satu alternatif pakan tambahan pada ternak yang sehat dan aman bagi lingkungan. Selain itu mikroba prebiotik mampu memproduksi substansi berguna, dapat menurunkan populasi mikroba patogen, meningkatkan kesehatan dan daya imunitas ternak.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa:

1. Terjadinya daya agregasi karena bakteri *Pediococcus* sp. mampu berautoagregasi yang ditandai dengan adanya endapan pada dasar tabung, dan terjadi proses koagregasi karena bakteri *Pediococcus* sp. mampu berkoagregasi dengan *Staphylococcus aureus*, *Pediococcus* sp. dengan *Salmonella thypi*.
2. Isolat BAL asal saluran pencernaan DOC broiler mampu melekat atau menempel pada permukaan mukosa usus halus mencit secara *in vitro* baik yang tidak dicuci dengan PBS (*Phospat Buffer Soline*) pH 5, namun lebih dominan yang dicuci dengan PBS pH 5.

B. Saran

Dengan melihat kesimpulan diatas maka bakteri asam laktat *Pediococcus* sp. asal saluran pencernaan DOC broiler memiliki potensi untuk dijadikan sebagai bakteri probiotik dalam pakan ternak.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, C. 2009. *Probiotics-Protection Against Infection: Using Nature's Tiny Warriors To Stem Infection*. Available at: <http://probiotic.org/lactobacillus-rhamnosus.htm>. Opened.
- Amin dan Leksono, 2001. Efektivitas Bakteri Asam Laktat dalam Menghambat Bakteri. Airlangga. Jogyakarta.
- Baird-Parker, A.C. 1980. Organic acids. In: Silliker, J.H., R.P. Elliot, A.C. Baird-Parker, F.L. Bryan, J.H.B. Christian, D.S. Clark, J.C. Olson, dan Robert Jr., *Microbialecolology of food*. New York: Academic Press. pp. 126-135.
- Buckle, K. A., R. A. Edwards, G. H. Fleet & M. Wootton. 2007. *Ilmu Pangan. Terjemahan* : H. Purnomo dan Adiono. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Bourlioux, P, B. Kolletzko, F. Guarner & V Braesco. 2003. *The intestine and its microflora are partners for the protection of the host* : report on the Danone Symposium "The Inteligent Intestine", held in Paris, June 14, 2002. *Am. J.Clin. Nutr.* 78 : 675 – 83.
- Ballenger, L. 2001. *Rattus norvegicus*. Animal Diversity Web. <http://animaldiversity.Ummz.umich.edu/site/accounts/information/Rattusnorvegicus.html>.
- Condon, S. 1987. *Responses of lactic acid bacteria to oxygen*. *FEMS. Microbiol. Rev.* 46:269-280.
- Cole, D.J.A. 1991. *The role of the nutritionist in designing feed for the future in feed industry*. T.P. Lyons (ed). Proceeding of Altech's. Seventh annual Symposium. Altech Technical Publication. Nicholasville Kentucky :1 – 2.
- Dahl, T.A., W.R. Midden dan P.E. Hartman. 1989. *Comparison of killing of Gramnegatif and Gram-positif bacteria by pure singlet oxygen*. *J. Bacteriol.* 171 :2188-2194.
- De Vuyst, L. dan E.J. Vandamme. 1994. Antimicrobial potential of lactic acid bacteria In: De Vuyst, L. dan E.J. Vandamme. *Bacteriocins of lactic acid bacteria: microbiology, genetic and application*. London:Blackie Academic & Professional.
- Dwyana, Z. dan Gobel, R. B. 2012. *Mikrobiologi Umum*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hasanuddin. Makassar.

- Fuller, R. 1989. A Review *Probiotic in Man and Animals*. Journal of Applied Bacteriology. 66: 365-378.
- Fuller, R. 1992. *History and Development of Probiotics*. In *Probiotics the Scientific basis*. Edited by Fuller. Chapman and hall. London, New York, Tokyo, Melbourne, Madras. Pp. 1 – 7.
- Gusils, C., A.P. Chaia, S. Gonzalez And G. OLIVER. 1999. *Lactobacilli isolated from chicken intestines: Potential use as probiotics*. J. Food. Protect. 2(3): 252 – 256.
- Gibson, G.R. & M. B. Roberford. 1995. *Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of probiotics*. J. Nutr. 125: 1401-1412.
- Gibson, G & F. Angus. 2000. *Prebiotics and Probiotics*. Leatherhead Publishing, England.
- Hoier, E. 1992. *Use Probiotic starter culture in dairy products*. Food Austr. (44) 9: 418-420.
- Jankovic Ivana, Ventura Marco, Meylan Valerie, Rouvet Martine, Elli Marina, Zink Raft. *Contribution of Agregation-Promoting Factor to Maintenance of Cell Shape in Lactobacillus gasseri 4N1*. Journal of Bacteriology 185 no. 11(june 2003): 3288-3296. <http://jb.asm.org/> (Diakses 28 Januari 2016).
- Kaur Baljinder, Garg Neena, Sachdev, Kumar Balvir, Mittu Bharti, Chauhan Ashish. 2012. *Isolation and Molecular Characterization Of Anti-Helicobacter Phylori Bacteriocin Producing Pediococcus sp. BM28*. Open Access Scientific Reports.
- Kanisius. 1986. *Beternak Ayam Pedaging*. Yogyakarta : Kanisius
- Kementerian Agama, RI., 2012. *Al-Qur'an dan Terjemahnya*, Jakarta timur: CV. Darus Sunnah.
- Kos B., Suskovic S., Simpraga M., Frece J., Matosic S. *Adhesion and Aggregation Ability of Probiotic Strain Lactobacillus acidophilus M92*. Journal of Applied Microbiology 94 (Diakses 28 januari 2016).
- Lee, D.K., S. Jang, E.H. Baek, M.J. Kim, K.S. Lee, H.S. Shin, M.J. Chung, J.E. Kim, K.O. Lee, and N.J. Ha. 2009. *Lactic acid bacteria affect serum cholesterol levels, harmful fecal enzyme activity, and fecal water content*. Lipids in Health and Disease. 8:21.

- Lisal, J. S. 2005. *Konsep probiotik dan prebiotik untuk modulasi mikrobiota usus besar*. J. Med. Nus. 26(4): 259-262.
- Makarova, K., A. Slesarev, Y. Wolf, A. Sorokin, B. Mirkin, E. Koonin, A. Pavlov, N. Pavlova, V. Karamychev, N. Polouchine V. Shakhova, I. Grigoriev, Y. Lou, D. Rohksar, S. Lucas, K. Huang, D. M. Goodstein, T. Hawkins, V. Plengvidhya, D. Welker, J. Hughes, Y. Goh, A. Benson, K. Baldwin, J.-H. Lee, I. Díaz-Muñiz, B. Dosti, V. Smeianov, W. Wechter, R. Barabote, G. Lorca, E. Altermann, R. Barrangou, B. Ganesan, Y. Xie, H. Rawsthorne, D. Tamir, C. Parker, F. Breidt, J. Broadbent, R. Hutkins, D. O'Sullivan, J. Steele, G. Unlu, M. Saier, T. Klaenhammer, P. Richardson, S. Kozyavkin, B. Weimer, and D. Mills. 2006. *Comparative genomics of the lactic acid bacteria*. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 103(42): 15611–15616.
- M. Victoria Moreno-Arribas, Carmen Polo, María Carmen Polo (2008). *Wine chemistry and biochemistry*. Springer. [ISBN 978-0-387-74116-1](#). Page.39
- Malole, M. B. M. & C. S. Pramono. 1989. *Penggunaan Hewan-hewan Percobaan Laboratorium*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat jenderal Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Nester, 2004, *Micobiology A Human perspektif, fourth edition*, Hal 272- 273, 537, 641, 812, Library Of Congress Cataloging in Publication Data, Filipina
- Nio, O. K. 1989. *Cara menentukan kualitas protein suatu bahan makanan*. Departemen Kesehatan. <http://www/kalbe.co.id.html> (11 Juli 2016).
- O'Sullivan, O., J. O'Callaghan, A. S. Vegas, O. McAuliffe, L. Slattery, P. Kaleta, M. Callanan, G. F. Fitzgerald, R. P. Ross, and T. Beresford. 2009. *Comparative genomics of lactic acid bacteria reveals a niche-specific gene set*. BMC Microbiol. 9:1471-2180.
- Prado, F. C., J. L. Parada, A. Pandey, and C. R. Soccol. 2008. *Trends in non-dairy probiotic beverages*. Food Res. Int. 41:111-123
- Parvez, S., Malik, K.A., Ah Kang, S., and Kim, H.Y. 2006. *Probiotics and their fermented food*. products are beneficial for health.
- Pelczar, M. J. & E. C. S Chan. 2007. *Dasar-dasar Mikrobiologi Jilid 1*. Terjemahan R. S. Hadioetomo, T. Imas, S. S. Tjitrosomo & S. L. Angka. Universitas Indonesia Press, Jakarta.

- Pot, B., W. Ludwig, Kersters, dan K. Schleifer. 1994. Taxonomy of lactic acid bacteria. In : De Vuyst, L. dan E. J. Vandamme. *Bacteriocins of lactic acid bacteria : microbiology, genetic and application*. London:Blackie Academic & Professional.
- Rahayu, E.S. 2007. *Laporan Kegiatan Peningkatan Produksi dan Keamanan Pangan pada Komoditi Jagung dan Kacang Tanah*. Kerjasama antara Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada melalui ProGram PHK-B, Jurusan TPHP dan Dinas Pertanian Tanaman Pangan Propinsi Jawa Tengah.
- Sari, Ramdana. *Karakterisasi Bakteri Probiotik yang Berasal dari Saluran Pencernaan Ayam Pedaging*. Universitas Hasan uddin. Makassar. 2012.
- Sanders, M. E. 2000. *Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health* . J. Nutr. 130: 384S–390S.
- Surono, I.S. 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Tri Cipta Karya. Jakarta.
- Sumarni Dewi. *Karakteristik Penempelan dan Koagregasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Indigenous Dadih dan Yoghurt Sebagai kandidat Probiotik pada Usus Halus Tikus Secara In vitro*. Skripsi. Bogor: Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, 2012. <http://respository.ipb.ac.id/> (Diakses 28 Januari 2016).
- Simoës Lucia Chaves, Simoës Manuel, Viera Maria Joao. *Acinetobacter calcoaceticus* Plays a Bridging Function in Drinking Water Biofilms. IBB-Institute for Biotechnology and Bioengineering Universidade do Minho Campus de Guita Portugal (2008). <https://repositorium.sdum.uminho.pt/> (Diakses Tanggal 28 Januari 2016).
- Sigit, S. H., F.K. Koesharto, U.K. Hadi, D.J. Gunandini, S. Soviana, I.A. Wirawan, M. Chalidaputra, M. Rivai, S. Priyambodo, S. Yusuf, S. Utomo. 2006. *Hama Pemukiman Indonesia*. Sigit, S.H & U. K. Hadi (eds). Unit Kajian Pengendalian Hama Pemukiman Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Smith, J. B. & S. Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan-hewan Percobaan Daerah Tropis*. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Talarico, T.L., I.A. Casas. T.C. Chung dan W .J. Dobrogosz. 1988. Production and isolation of reuterin, a growth inhibitor produced by *Lactobacillus reuteri*. Antimicrob. Agents Chemother. 32: 1854-1858.

- Talarico, T.L. dan W.J. Dobrogosz. 1989. *Chemical characterization of an antimicrobial substance produced by Lactobacillus reuteri*. Antimicrob. Agents Chemother. 33:674-679.
- Yuguchi, H., T. Goto, & S. Okogoni. 1992. *Fermented milks, lactid drinks, and intestinal microflora*. In: Nakazawa, Y. & A. Hosono (Eds.). *Function of Fermented Milk : Challenges for The Health Sciences*. Elsevier Science. Publisher Ltd., University Press, Cambridge.
- Yiu H. Hui, George G. Khachatourians (1994). *Food Biotechnology: Microorganisms*. Wiley-Interscience. [ISBN 978-0-471-18570-3](#).

LAMPIRAN PENELITIAN

1. Alat-alat yang digunakan

a. Autoklaf



b. LFC



c. Inkubator



d. Kulkas



e. Timbangan digital



f. Hot plate digital



g. mikroskop



h. mikropipet



I. Alat-alat



2. Bahan yang digunakan

a. MRSA



b. Alkohol



c. Kristal violet



d. Iugol



e. Safranin



f. Oil mersi



g. Aquadest



h. PBS



3. Kegiatan yang dilakukan

a. DOC umur 1 hari



a. Proses pemotongan DOC



b. Proses pembedahan DOC



d. proses penimbangan MRSA



e. proses homongen



f. proses sterilisasi



g. proses pemurnian kultur bakteri



4. Agregasi

1. Autoagregasi

a. Sebelum diinkubasi

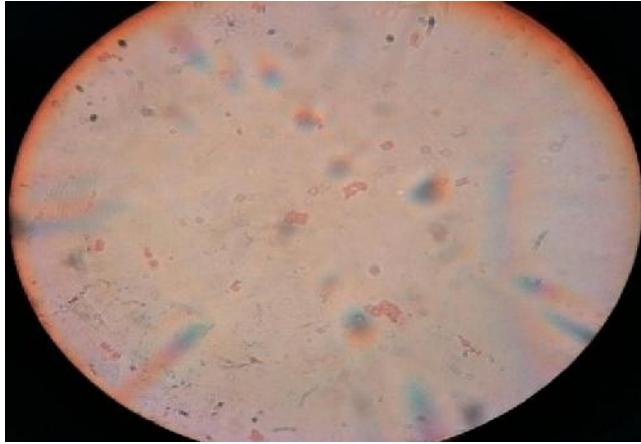


b. Sesudah diinkubasi selama 24 jam

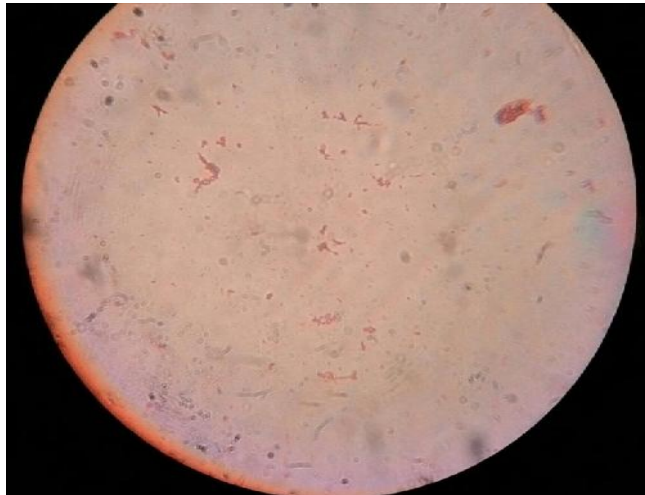


2. Koagregasi

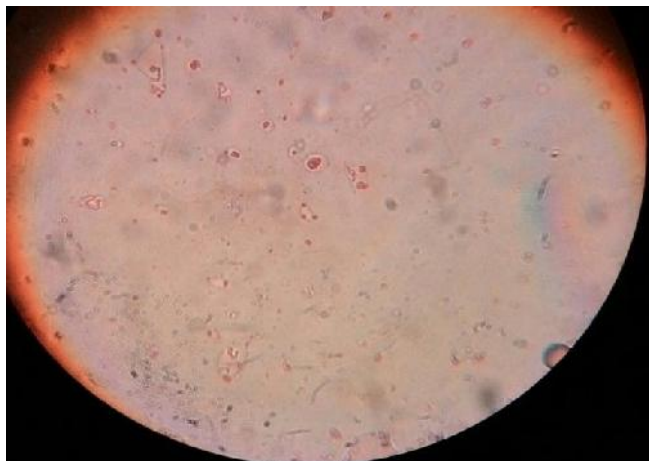
a. *Pediococcus* sp.



b. *Pediococcus* sp. + *Staphylococcus aureus*



c. *Pediococcus* sp. + *Salmonella thypi*



5. Uji penempelan

a. pakan starter



b. mencit



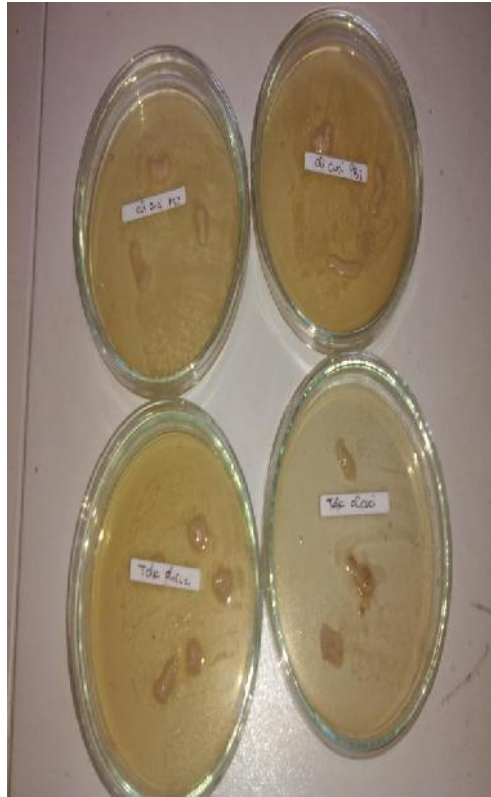
c. persiapan bahan



d. Usus mencit dengan PBS



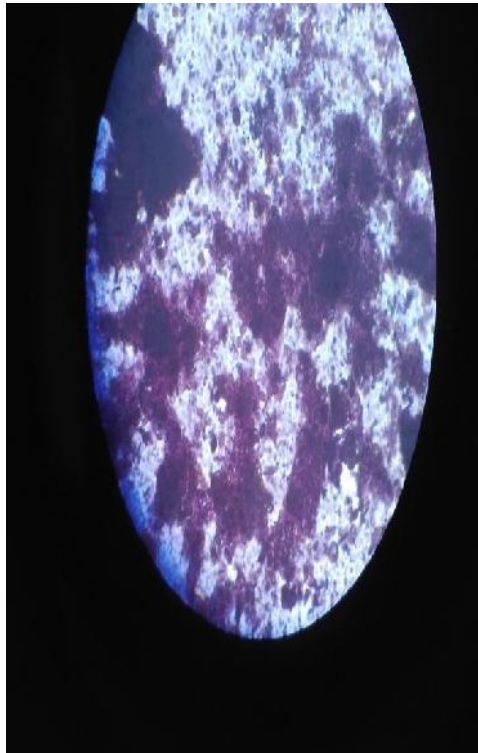
e. usus mencit



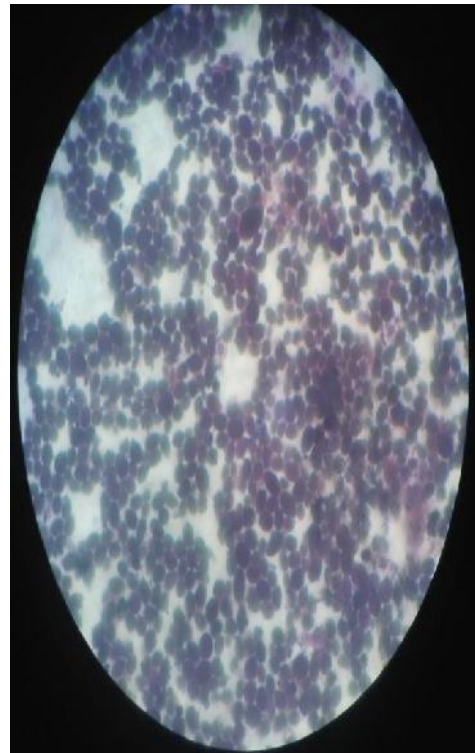
h. pengamatan



I. tidak dicuci pbs



j. dicuci pbs



RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Syafruddin. Lahir di Kabupaten Wajo, kecamatan Pammana, tepatnya di Desa Lapaukke pada tanggal 11 Agustus 1992. Penulis akrab disapa “Safar” adalah anak dari pasangan suami istri Madia dan Nawia. Penulis memulai pendidikan awal di SDN 296 Lapaukke pada tahun 2000 dan tamat pada tahun 2006. Pada tahun yang sama penulis melanjutkan Ke SMPN 3 Pammana tamat pada tahun 2009, kemudian melanjutkan pendidikan Ke SMAN 1 Pammana pada tahun 2009 dan tamat pada tahun 2012. Kemudian pada tahun 2012 penulis melanjutkan pendidikan ke perguruan tinggi Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar, melalui jalur ujian UMB-PTKIN dan diterima pada Fakultas Sains dan Teknologi, Jurusan Ilmu Peternakan. Semasa berkuliah penulis aktif menjadi anggota New Generation Club (NGC), Wakil Sekertaris Umum Himpunan Mahasiswa Jurusan (HMJ) Ilmu Peternakan pada tahun 2013, dan pada tahun yang sama aktif juga sebagai Wakil Ketua di Himpunan Pelajar Mahasiswa Wajo (HIPERMAWA) Komisariat Pammana, dan pada tahun 2014-2015 kembali di HMJ Ilmu Peternakan sebagai Majelis Pertimbangan Organisasi (MPO) dan pada tahun yang sama aktif juga dilembaga Fakultas sebagai pengurus Dewan Mahasiswa (DEMA), pada bidang Keilmuan & Penalaran, dan Pada tahun yang sama pula aktif sebagai pengurus Himpunan Pelajar Mahasiwa Wajo (HIPERMAWA) Komisariat Kecamatan Pammana sebagai Koordinator Bidang Aksi & Advokasi, dan pada tahun 2016 kembali menjadi pengurus Dewan Mahasiswa (DEMA) sebagai Staf Ahli bidang Keilmuan & Penalaran, dan pada tahun yang sama mendirikan organisasi Komunitas Pelajar Pemuda Lapaukke (KPPL).